



衛生試験所報告

第 93 号

昭和 50 年

BULLETIN OF NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES

No. 93 1975

国立衛生試験所

衛生試験所 Eisei Shikenjo Hokoku

ページ	位 (左右, 上下, 行)	誤	正	ページ	位 (左右, 上下, 行)	誤	正
目次 I	上 9 行	高分解能スペクトル	高分解能質量スペクトル		左下10行	Food chemicals	Food Chemicals
37	柱			121	上10行	Thirtyfour	Thirty-four
	上 7 行 論題				上19行	graperfruits	grapefruits
39	柱				上19行	leoel	level
目次 II	上18行	高鳥浩介	高鳥浩介・倉田 浩		上24行	carried out	carried out on
4	Table 2 下11行	Sheffer	Shaffer	122	上10行\	Kiwi	kiwi
5	Table 2 上 5 行	(964-1166)	(964-1168)	123	右下10行 /		
7	左上 7 行	大田	太田		左下16行}	防微紙	防微紙
	左上13行}	いづれも	いづれも		左下 7 行}		
	左下 8 行}				左下 5 行}		
	左下13行	(1945)	(1953)	124	右下16行	orangedrink	orange drink
	左下 2 行}	摂餌量	摂餌量	125	左上 6 行	かた.	かった.
	右上 6 行}				右上11行	91, 86 (1974)	91, 99 (1973)
	右下21行}				右上13行	91, 99 (1974)	92, 91 (1974)
	右上 9 行	2 群一分け	2 群に分け		右上14行	食衛志	食衛誌
15	左上20行	Lawrence ら ¹²⁾	Lawrence ら ²¹⁾	126	Table タイトル	food red No.3	Food Red No.3
20	右上 5 行	Fishben	Fishbein	127	右上15行	赤色号	赤色 3 号
23	右上 9 行	9) 大場琢磨ら	9) 大場琢磨, 鈴木康雄ら	128	左上19行	三塩化タタン	三塩化チタン
24	左上25行	11)Drugs.....	11)Drugs.....	129	左下 1 行	OpticsI	Optical
27	左 1 行	蓄	畜	146	左下18行	追肥 (3.3 m ³)	追肥 (3.3 m ²)
39	左下21行	Table 2	Table 3	147	左下 3 行	Fresh (g) Dry (g)	Fresh (%) Dry (%)
51	上11行	loaded	led	158	右上 3 行	改正は必要な	改正に必要な
52	右下11行	dinitroso pentamethylene	dinitrosopentamethylene		右下16行	回路は血漿液を	回路に血漿液を
55	左下20行	25 m ^l	25 ml	172	右下 5 行	12月17日	12月27日
59	Fig. 4 説明 3 行	fodium	sodium	173	右上16行	P, P'-DDT	p, p'-DDT
78	左, 小見出	実験林料	実験材料		左下 9 行	P, P-DDE	p, p'-DDE
	左上 8 行	35 g	35 kg		左下 9 行	(学会発表33, 36, 誌上発表27)	(学会発表36)
91	右上16行	: 生薬	: 生薬誌, 29, 31 (1975)	174	右下 6 行	(学会発表24)	削除
107	Table 1 2 行	x	$\bar{x}$	217	左上10行	フェチアジン系	フェノチアジン系
108	左上 5 行	AWXI 5-52-6-2-3-8 5%	AWXI 5-52-6-2-3-8 (5%)	219	右上 2, 3 行	エタンブトール	エタンブトール錠, エタンブトール
109	右中23行\	Yaesakura	Yaezakura		左上 3, 4 行	試験検数	試験件数
112	左上12行\				表, 右上 1 行	避妊用ポリオキシエ	避妊用ポリオキシエチ
	右下 5 行	ジベレリン処理とすれば	ジベレリン処理をすれば	220	表, 左区分欄 6 行	チレンノルフェニルエーテル錠	レンノニルフェニルエーテル錠
115	上 8 行	Yamamoto	Yamoto				
	左 1 行	フルマ酸	フマル酸				



衛生試験所報告

第 93 号

昭和 50 年

BULLETIN OF NATIONAL INSTITUTE OF HYGIENIC SCIENCES

No. 93 1975

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

総 説

- 医療用塩化ビニル樹脂の可塑剤フタル酸エステル—主に DEHP—の安全性 ……………大塚琢磨・
鈴木康雄・大森義仁・桑村 司・山羽 力・田中 彰・小田嶋成和・石館 基・前川昭彦…… 1

報 文

- ・ ガスクロマトグラフィーによる油剤および乳剤中のダイアジノンの定量…鯉淵昌信・柴崎利雄・井上哲男……27
- ・ 二波長クロマトスキャナによる各種感冒剤の分離定量 (第2報)
……………井上哲男・立沢政義・石井豊三・井上優美子……31
- ・ 磁場掃引速度とミニコンによる高分解能スペクトルの分解能について……………叶多謙蔵・阿部久人……37
- ・ 食品中の残留農薬分析に関する研究 (第17報) 農作物中の残留テトラクロロイソフタロニトリ
ルの分析法……………寺西葉子・武田明治・内山 充……41
- ・ 魚肉ソーセージ製造工場における環境中の2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸
アミド (AF-2) について ……………酒井綾子・原田基夫・谷村顕雄……46
- ・ 輸入もやしめめの中のジニトロソペンタメチレンテトラミン (D.P.T.) および亜リン酸の検
索……………慶田雅洋・金田吉男・伊藤啓志男・外海泰秀……51
- ・ 毒物劇物の衛生化学的研究 (第1報) 四エチル鉛の安全処理に関する研究
……………佐谷戸安好・中室克彦・辻 楠雄・外村正治……54
- ・ 毒物劇物の衛生化学的研究 (第2報) シアン化ナトリウムの安全処理に関する研究
……………佐谷戸安好・安藤正典・松井啓子・外村正治……57
- ・ ジゴキシンを経口投与したウサギにおける血清中のジゴキシニン濃度 (第1報)
……………川村次良・佐藤 浩・木村俊夫・徳永裕司・三谷和子・福田秀男……61
- ・ Chinoform および 5-chloro-8-quinolinol のイヌに対する長期投与実験
……………浦久保五郎・長谷川 明・永松国助・小林和雄・戸部満寿夫……65
- ・ シンナーの毒性に関する研究……………川崎 靖・鈴木幸子・小林和雄・戸部満寿夫・池田良雄……72
- ・ ケシの直接抽出に関する研究 (第2報) 数地域における生育の特性について
……………畠山好雄・本間尚治郎・大野忠郎・大野昌子……77

ノ ー ト

- 二波長クロマトスキャナによる安息香酸ナトリウムカフェイン製剤の定量 (第3報)
……………井上哲男・立沢政義・橋場茂子……83
- 医薬品の溶出試験法に関する研究 (第1報) メプロバメート錠の崩壊および溶出試験
……………植岡澄子・岡 恒・持田研秀……86
- ポリアミド薄層電気泳動—デンストメトリーによる市販整腸剤中のタンニン酸ペルベリンの定量
……………野口 衛・持田研秀……89
- ガスクロマトグラフィーによるオキシコドン製剤中の塩酸オキシコドンの定量
……………大野昌子・島峯望彦・高橋一徳……92
- 幻覚剤に関する研究 (第9報) トリブタミン系化合物の分析……………大野昌子・島峯望彦・高橋一徳……95
- 有機リン農薬の薄層クロマトグラフィー……………武田明治・内山 充・武田トミエ……99
- 洗濯用洗剤中の蛋白分解酵素のニンヒドリンによる検出方法
……………中村晃忠・足立 透・鈴木明子・小嶋茂雄・毛利潤子・大塚琢磨…… 102
- ケシ (*Papaver somniferum* L.) の早生型系統の生産力について……………大野忠郎・木下孝三・小峰常行…… 106

II

薬用植物の栽培試験（第5報）ボタンの生育・収量と増殖について

.....堀越 司・本間尚治郎・畠山好雄・逸見誠三郎... 109

資 料

フマル酸の融点について.....慶田雅洋・山路 昭・上田清子... 115

放射性医薬品として用いられる核種等の γ 線スペクトルについて.....浦久保五郎・亀谷勝昭... 117

銅クロロフィリンナトリウムの比吸光度ならびに吸光度比について.....神蔵美枝子・沢 文子... 119

昭和49年度における輸入食品の化学検査について

.....慶田雅洋・金田吉男・伊藤裕志男・外海泰秀・中村恵三・山路 昭・西川マチ子... 121

昭和49年度におけるタール色素およびタール色素アルミニウムレーキの製品検査成績について

(タール色素の製品検査について 第14報)

.....慶田雅洋・伊賀宗一郎・中村恵三・上田清子・西川マチ子... 125

食用黄色5号（サンセットエロ-FCF）の付随色素について

.....慶田雅洋・金田吉男・伊藤裕志男・外海泰秀... 127

く形波ポーログラフによる大気中のアクロレインの測定について.....山手 昇・松村年郎... 130

東京都内3カ所の国設自動車排出ガス常時測定所における大気汚染測定結果の概要（1974年1

月～12月）.....山手 昇・松村年郎... 133

輸入肉由来サルモネラ菌型一補遺.....河西 勉・鈴木 昭・小沼博隆... 138

市販冷凍食品の糸状菌分布について.....宇田川俊一・一戸正勝・谷口貞子・高島浩介... 142

薬用植物の栽培試験（第4報）ホッカイトウキ（北海当帰）の育苗について

.....堀越 司・本間尚治郎・古木益夫... 145

業務報告..... 149

誌上発表..... 183

学会発表..... 205

衛試験例..... 214

国家検定，国家検査などの試験状況報告..... 219

国立衛生試験所標準品..... 227

国立衛生試験所百年史 正誤表および注

CONTENTS

Review

- T. ŌBA, Y. SUZUKI, Y. ŌMORI, T. KUWAMURA, T. YAMAHA, A. TANAKA, S. ODASHIMA, M. ISHIDATE and A. MAEKAWA: Safety of Phthalic Acid Esters—Especially DEHP—, Plasticizer of Polyvinyl Chloride for Medical Devices 1

Originals

- M. KOIBUCHI, T. SHIBAZAKI and T. INOUE: Gas-liquid Chromatographic Determination of Diazinon in the Oil Solutions and the Emulsifiable Concentrates27
- T. INOUE, M. TATSUZAWA, T. ISHII and Y. INOUE: Determination of Anti-cold Agents in Pharmaceutical Preparations by the Dual-wavelength Chromatoscanner31
- K. KANOHTA and H. ABE: Fast Scan High-Resolution Mass Spectrometry Using an On-Line Minicomputer37
- Y. TERANISHI, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Food. (XVII) Analytical Method of Tetrachloroisophthalonitrile Residue in Agricultural Products.....41
- A. SAKAI, M. HARADA and A. TANIMURA: Air Pollution with 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) Acrylamide in Fish Sausage Factory46
- M. IWAIDA, Y. KANEDA, Y. ITO and Y. TONOGAI: Detection of Dinitrosopentamethylenetetramine (D.P.T.) and Phosphites in Imported Bean Sprouts51
- Y. SAYATO, K. NAKAMURO, K. TSUJI and M. TONOMURA: Hygienic Chemical Studies on Violent Poisons. I. Studies on the Treatment of Tetraethyllead54
- Y. SAYATO, M. ANDO, S. MATSUI and M. TONOMURA: Hygienic Chemical Studies on Violent Poisons. II. Studies on the Treatment of Sodium Cyanide.....57
- J. KAWAMURA, H. SATO, T. KIMURA, H. TOKUNAGA, K. MITANI and H. FUKUDA: Serum Digoxin Concentration after Oral Administration of Digoxin in Rabbits. I61
- G. URAKUBO, A. HASEGAWA, K. NAGAMATSU, K. KOBAYASHI and M. TOBE: Feeding Test of Chinoform and 5-chloro-8-quinolinol in Dog65
- Y. KAWASAKI, S. SUZUKI, K. KOBAYASHI, M. TOBE and Y. IKEDA: Studies on the Inhalation Toxicity of A-thinner, its Principal Constituents and Chloroform72
- Y. HATAKEYAMA, N. HOMMA, T. ŌNO and M. ŌNO: Studies on Cultivation of *Papaver somniferum* L. and Extraction of the Alkaloids. II. Growth of *Papaver somniferum* L. in Different Districts77

Notes

- T. INOUE, M. TATSUZAWA and S. HASHIBA: Determination of the Sodium Benzoate-caffeine in Pharmaceutical Preparations by the Dual-wavelength Chromatoscanner. III.....83
- S. UEOKA, H. OKA and K. MOCHIDA: Studies on the Dissolution Test of Drugs. I Disintegration and Dissolution of Meprobamate Tablets.....86
- M. NOGUCHI and K. MOCHIDA: Polyamide Thin-layer Electrophoresis-densitometry for the Determination of Berberine Tannate in Pharmaceutical Formulation.....89
- M. ONO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: Gas Chromatographic Determination of Oxycodone Hydrochloride in its Medicinal Preparations92

M. ŌNO, M. SHIMAMINE and K. TAKAHASHI: Studies on Hallucinogens. IX Analysis of Tryptamine Derivatives	95
M. TAKEDA, M. UCHiyAMA and T. TAKEDA: Thin-layer Chromatography of Organophosphorus Pesticides	99
A. NAKAMURA, T. ADACHI, A. SUZUKI, S. KOJIMA, J. MOHRI and T. OBA: A Method to Detect Proteolytic Enzyme from Detergents	102
T. ŌNO, K. KINOSHITA and T. KOMINE: On the Productivity of the Early Maturity Strains in Opium Poppy (<i>Papaver somniferum</i> L.)	106
T. HORIKOSHI, N. HOMMA, Y. HATAKEYAMA and S. HEMMI: Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. V. On the Growth of <i>Paeonia suffruticosa</i> Andr. Especially Multiplication and Yield	109

Technical Data

M. IWAIDA, A. YAMAJI and K. UEDA: On the Melting Range of Fumaric Acid	115
G. URAKUBO and K. KAMETANI: γ -Ray Spectra of Some Kind of Radiopharmaceuticals and Other Nuclides	117
M. KAMIKURA and F. SAWA: Specific Absorbance, Ratio of Absorbances at Absorption Maxima of Sodium Copper Chlorophyllin	119
M. IWAIDA, Y. KANEDA, Y. ITO, Y. TONOGAI, K. NAKAMURA, A. YAMAJI and M. NISHIKAWA: Results of the Chemical Inspections of the Imported Foods from April in 1974 till March in 1975	121
M. IWAIDA, S. IGA, K. NAKAMURA, A. YAMAJI, K. UEDA and M. NISHIKAWA: Results of the Product Examination of Coal-tar Dyes and Coal-tar Aluminum Lakes from April in 1974 till March in 1975 (On the Product Examination of Coal-tar Dyes. XIV)	125
M. IWAIDA, Y. KANEDA, Y. ITO and Y. TONOGAI: Subsidiary Dyes in Food Yellow No. 5 (Sunset Yellow FCF)	127
N. YAMATE and T. MATSUMURA: Determination of Acrolein in Ambient Air by the Use of Square Wave Polarography	130
N. YAMATE and T. MATSUMURA: Summary of Air Pollutants Levels at the National Autoexhaust Monitoring Station at Three Locations in Tokyo from January to December 1974	133
T. KAWANISHI, A. SUZUKI and H. KONUMA: Serotypes of <i>Salmonella</i> Isolated from Imported Meats—Supplement—	138
S. UDAGAWA, M. ICHINOE, S. TANIGUCHI, K. TAKATORI and H. KURATA: On the Mycoflora of Frozen Food Products in Retail Markets	142
T. HORIKOSHI, N. HOMMA and M. FURUKI: Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. IV. On the Raising of Seedling of <i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa var. <i>sugiyamae</i> Hikino	145
Annual Reports of Departments	149
Summaries of Papers Published in Other Journals	183
Titles of Speeches at Scientific Meetings	205
Seminars	214
Survey of the Results of National Tests	219
Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences	227

医療用塩化ビニル樹脂の可塑剤フタル酸エステル —主に DEHP—の安全性

療 品 部	大場琢磨・鈴木康雄
薬 理 部	大森義仁・桑村 司
医 学 部	山羽 力・田中 彰
薬品病理部	小田嶋成和・石館 基・前川昭彦

Safety of Phthalic Acid Esters—Especially DEHP—, Plasticizer of Polyvinyl Chloride for Medical Devices

Department of Medical Supplies : Takuma ŌBA and Yasuo SUZUKI

Department of Pharmacology : Yoshihito ŌMORI and Tsukasa KUWAMURA

Department of Medical Chemistry : Tsutomu YAMAHA and Akira TANAKA

Department of Chemical Pathology : Shigeyoshi ODASHIMA, Motoi ISHIDATE, Jr.
and Akihiko MAEKAWA

(Received May 31, 1975)

1. 緒 言

軟質塩化ビニル樹脂（以下 PVC）は採血、輸血及び血液製剤の製造等に用いる輸血セット、血液バッグあるいは人工心肺、人工腎臓用の血液回路などの医療に広く使用され、一日も欠くことのできない重要なものである。これには 30～40% のフタル酸エステルを主成分とする可塑剤のほかステアリン酸金属塩の安定剤などが含まれているが、このフタル酸エステルが血液に溶けて人体に入り有害作用をなすのではないかとといった問題について多くの研究が行なわれてきた。

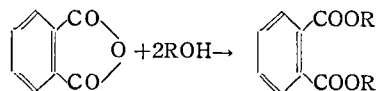
その発端は1970年の R.J. Rubin¹⁾ のフタル酸エステルが肝臓などに蓄積するという報告あるいはベトナムの戦場で輸血を受けたアメリカ負傷者が肺ショックをおこした原因が血液バッグから溶け出したフタル酸エステルではないかという推測から、1970年11月の Wall Street Journal あるいは1972年1月の Washington Post の論説²⁾ が出されたことであろう。

わが国でも昭和47年5月朝日新聞紙上に報道されて以来、急速にフタル酸エステルの安全性に対する関心が高まり、直ちに厚生省でも研究班を作り著者らで当面問題とされた PVC 製医療器具からの溶出、凝血作用及び体内の蓄積等の検討を始めた^{3,4)}。そして現在すでに J. Autian⁵⁾ 及び下村^{6,7)} による総説もあるが、当研究班が表題のテーマで今日まで3年間にわたって研究を行なった結果をまとめる目的で、これを中心と

して内外の文献を加えて以下に述べることにした。

フタル酸エステルの種類及び性状

フタル酸エステルは無水フタル酸とアルコールとを縮合して作られ、アルコールの種類によっていろいろあるが、そのうち PVC の可塑剤に使用されているものの15種類を Table 1 に示した。



R が $\text{-C}_4\text{H}_9$ (*n*-ブチル基) のものは、防蚊剤として約30年前から使われまた錠剤のコーティング剤に添加されていて、フタル酸ジブチルという名称で日本薬局方第2部に、PVC の可塑剤などの工業用薬品として JIS K-6752 にそれぞれ収載されている。

R が $\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{-C}_4\text{H}_9$ (2-エチルヘキシル基) のものは、化学名を di-(2-ethylhexyl) phthalate といい、通常フタル酸ジオクチルあるいは DOP, DEHP という名称で呼ばれている。〔以下すべて DEHP として記す〕。この DEHP は JIS K-6753 に品質規格がきめられており、比重 0.986、沸点 365° の無色澄明で無臭の油状の液体で、アルコールなどの有機溶媒によく溶けるが、水に対する溶解度はきわめて低い。

DEHP の用途

DEHP は主に PVC の可塑剤として使用され、いわゆる軟質のビニル管およびビニルシートには 30～40% 含まれている。そして PVC の可塑剤として用

Table 1. Phthalic acid ester for plasticizer

Name	Formula	Molecular weight	Specific gravity (at 25°)	Index of refraction (at 25°)	Boiling point °C (mmHg)	Melting point °C	Abbreviated name
1. dimethyl phthalate	$C_6H_4(COOCH_3)_2$	194	1.189~1.191	1.5168(20)	282	5.5	DMP
2. diethyl phthalate	$C_6H_4(COOC_2H_5)_2$	222	1.118~1.123	1.5019(20)	296	— 4	DEP
3. dibutyl phthalate	$C_6H_4(COOC_4H_9)_2$	278	1.042	1.4926(20)	339	—35	DBP
4. diheptyl phthalate	$C_6H_4(COOC_7H_{15})_2$	363	0.990	1.4847	212 (5)	—	DHP
5. di- <i>n</i> -octyl phthalate	$C_6H_4(COOC_8H_{17})_2$	391	0.978 (20)	1.482	220~248(4)	—25	DnOP
6. diisooctyl phthalate	$C_6H_4(COOC_8H_{17})_2$	391	0.981	1.484	239 (5)	—45	DIOP
7. di-(2-ethylhexyl) phthalate	$C_6H_4(COOC_8H_{17})_2$	391	0.986	1.485	370	—46	DOP or DEHP
8. dinonyl phthalate	$C_6H_4(COOC_9H_{19})_2$	419	0.965~0.972	1.4812	413	—	DNP
9. diisodecyl phthalate	$C_6H_4(COOC_{10}H_{21})_2$	447	0.965 (20)	1.4835(20)	261 (5)	—37	DIDP
10. ditridecyl phthalate	$C_6H_4(COOC_{13}H_{27})_2$	530	1.053 (20)	1.4834	235(3.5)	—37	DTDP
11. diallyl phthalate	$C_6H_4(COOC_2CH=CH_2)_2$	246	1.120 (20)	1.516(20)	156~175(4)	—70	DAP
12. butyl benzyl phthalate	$C_6H_4 \begin{matrix} \diagup COOC_4H_9 \\ \diagdown COOC_2H_5 \end{matrix} C_6H_5$	312	1.111~1.119	1.5336 ~1.5376	370	—	BBP
13. dicyclohexyl phthalate	$C_6H_4(COOC_6H_{11})_2$	330	1.148~1.23	—	212~218(5)	58~65	DCHP
14. di-(2-ethylhexyl) tetrahydrophthalate	$C_6H_8(COOC_8H_{17})_2$	395	0.967	1.4648	220 (5)	—	DOTP
15. butyl phthalyl butyl glycolate	$C_4H_9OCOC_6H_4COOCH_2COOC_4H_9$	336	1.097	1.490	215 (5)	—	BPPG

いられているフタル酸エステルの生産量の 55% は、DEHP であり、昭和 49 年度の生産量は 18 万トンといわれている。

DEHP の用途は軟質 PVC のフィルムシート、レザー、ホース、チューブ、容器の可塑剤として一般用、電線被覆用、食品用、化粧品用、医療用など広範囲にわたっている。

医療用具との関係は血液の保存あるいは赤血球の分離に使われる PVC 製血液セット、ディスポーザブル輸血・輸液セット、心臓手術の際に血液を循環させるこれに酸素を付加させる役割をする人工心肺セット、人工腎臓の透析時に使用する血液回路が主なもので、いずれも PVC 製で血液がこれらに直接接触するものであって、現在の医療に必要なものである。これらは医療技術の進歩と共に PVC の長所を生かして開発されてきたもので、以前はゴム管を使っていた輸血セットのチューブがゴムの有害性を指摘されて PVC に代ったという歴史もある⁸⁾。しかし材質として軟質 PVC は可撓性、柔軟性、透明性、熱接着性など多くの優れた物性をもっていて、未だ代るべきプラスチックがないので使用されている。

塩化ビニル樹脂製の医療用具の基準

医療用具の塩化ビニル樹脂製品に関する規制には次のような厚生省の告示の基準がある。

1. 塩化ビニル樹脂製血液セット基準
(昭和 40 年 9 月 28 日厚生省告示第 448 号)
2. ディスポーザブル輸血・輸液セット基準
(昭和 45 年 8 月 10 日同第 301 号)
3. ディスポーザブル採血用器具基準
(昭和 45 年 8 月 10 日、同第 300 号)
4. 人工心肺用ディスポーザブルセット基準
(昭和 46 年 7 月 19 日、同第 278 号)
5. 人工腎臓装置基準 (血液回路) (近く告示予定)

これらの基準の中に溶出物試験の項があり、それぞれの使用目的に応じて樹脂の量、溶出水量、溶出温度及び時間を定め、そのときの溶出液の外観、pH、重金属、過マンガン酸カリウム消費量、蒸発残留物および紫外吸収スペクトルを規制している。また生物学的試験には急性毒性、発熱性物質、溶血性などの試験項目でチェックしている。

(大 場)

2. 急性・亜急性・慢性毒性

2-1. 急性毒性

DEHP の LD₅₀ 値については種々の投与経路による報告がなされている。Hodge (1943)¹⁾ はラットを

用い、DEHP を 1 回経口投与し、4.5 g/kg 以上の用量で下痢を生じたが最高投与量の 34.5 g/kg においても動物の死亡は認められなかった。腹腔内投与したラットでも 19.2 g/kg 以上で下痢を生じた。最高投与量の 23.8 g/kg でも動物の死亡は認められないが、動物の剖検で腹腔内に乳化した液の貯留や肝に広く薄膜を生じ、投与後の早い時期の肝は重量増加を示し、混濁腫張の病理像を示す。またマウスへの腹腔内投与は 50、86 および 128 g/kg を投与し、死亡率はそれぞれ 12、15 および 5% を示し、量との相関は見られていない。

Shaffer ら (1945)²⁾ は 1% Tergitol (3,9-diethyl tridecanol) 1 ml 中に 0.5 ml の DEHP を分散させた液を用いての経口 LD₅₀ 値は雄ラットと雄ウサギで 30.6 g/kg と 33.9 g/kg であり、ラットでの組織学的所見ではあきらかな肝の混濁腫張と、腎で尿細管の顆粒分泌を伴う混濁腫張を示した。また DEHP を稀釈せずラット腹腔内に投与した LD₅₀ 値は 30.7 g/kg であり、この値はラットに経口投与した時と同じであった。さらに 6 匹のウサギを用い、20 ml/kg の用量を 1 回背部皮膚に塗布し 14 日間観察し 2 例の死亡をみており、ウサギの経皮 LD₅₀ は 25 ml/kg 附近にあり、経口投与の場合と同様な値であるとしている。なお経皮 LD₅₀ 値については Fassett³⁾ はモルモットでは 10 ml/kg 以上としている。

Calley ら (1966)⁴⁾ はマウス (Swiss Webster 系) を用い 8 種類のフタル酸エステルを腹腔内投与し LD₅₀ 値を求めた。DEHP は 14.19 g/kg で、Dicapryl Phthalate も同じ値で、用いたエステル類の内でも最も弱い毒性を示した。またエステル類のヘキソバルビタール睡眠時間に及ぼす影響を、乳化したエステルを 500 mg/kg 腹腔内投与し 30 分後にバルビタールを 60 mg/kg 腹腔内に投与して調べた。DEHP は睡眠時間を短縮 (対照値 46±1.66 (分) に対して 36±1.44 (分)) した。Dicapryl Phthalate も短縮したが、他のエステル類は延長を示した。Singh ら (1972)⁵⁾ は 8 種類のフタル酸エステルの急性毒性を Sprague Dawley 系のラットを用い腹腔内投与して行なった。DEHP の LD₅₀ 値は 50 ml/kg 以上であり、Dioctyl Phthalate も同じ結果を示している。また Gesler ら (1970)⁶⁾ は CF-1 マウスの腹腔内投与の LD₅₀ 値は 75 g/kg 以上であるとしている。

宮原ら (1973)⁷⁾ は ddy 系の雄マウスに DEHP を稀釈せずに経口あるいは静脈内投与を行ない、LD₅₀ 値はそれぞれ 100 g/kg 以上あるいは 1.37 g/kg であった。山田 (1974)⁸⁾ は、dd 系マウスでの DEHP

Table 2. Acute toxicities on DEHP

Animal	Sex	Route	Vehicle	Dose (Levels) g/kg	Observation	LD ₅₀ (95% confidence limits) g/kg	Symptoms and remarks	Reference	Ref. No.
Rat	Male, Female	p.o.	1.1-34.5 (6)			> 34.5	34.5 g/kg tolerated	Hodge (1943)	1
	Male	p.o.	emulsion		14 days	30.6	8/10 died at 79.5 g/kg	Shaffer (1945)	2
Mouse	Male	p.o.	undiluted		7 days	>100	100 g/kg tolerated	Miyahara (1973)	7
	Male, Female	p.o.	undiluted 22.7- 69.4 ml/kg	(6)	7 days	49.7 (48.3-51.1)	decrease of spontaneous movement, seborrhea, loss of hair	Yamada (1974)	8
	Male	p.o.	undiluted 50-150 (3)		7 days	>150	150 g/kg tolerated		
							decrease of spontaneous movement, oily hair	Suzuki (1975)	9
	Female	p.o.	undiluted 50-150 (3)		7 days	>150	150 g/kg tolerated		
							decrease of spontaneous movement, oily hair	Suzuki (1975)	9
Rabbit	Male	p.o.	emulsion		14 days	33.9 (25.2-45.2)	cloudy swelling of liver and kidney	Shaffer (1945)	2
Rat	Male, Female	i.p.	3.1-23.8 (6)			23.8	23.8 g/kg tolerated	Hodge (1943)	1
	Male	i.p.	undiluted			30.7 (23.2-40.6)	milky emulsion in peritoneal cavity	Sheffer (1945)	2
Mouse	Female	i.p.			7 days	>50 ml/kg	deaths with no dose response relationship	Singh (1972)	5
		i.p.	50-128 (3)			>50		Hodge (1943)	1
		i.p.	0.5-16.0 (4)			14.19 (12.62-15.76)		Calley (1961)	4
		i.p.				>75		Gesler (1970)	6
		i.p.	undiluted 40-200 (9)		4-5 weeks	>40-200	slight ataxia, diarrhea, distended abdomens, milky emulsion in peritoneal cavity, deaths with no dose-response relationship	Univ. of Utha (1974)	10

Rat	i.v.	bovine serum 760- (3) 24 hours 960 (774-1190) mg/kg 2/8 died at 760 g/kg (sonicated) 1300 mg/kg	Univ. of Utha (1974)	10
	i.v.	rat serum 1000- (4) 24 hours 2080 (1691-2558) mg/kg 1000 mg/kg tolerated (sonicated) 2500 mg/kg	Univ. of Utha (1974)	10
Mouse	i.v.	undiluted 800- (4) 24 hours 1060 (964-1166) mg/kg 800 mg/kg tolerated 1200 mg/kg	Univ. of Utha (1974)	10
	i.v.	calf serum 600- (6) 24 hours 960 (768-1200) mg/kg 600 mg/kg tolerated 2000 mg/kg	Univ. of Utha (1974)	10
	i.v.	mouse serum 1000- (4) 24 hours 1400 (1138-1722) mg/kg 1/8 died at 1000 mg/kg (sonicated) 2000 mg/kg	Univ. of Utha (1974)	10
	i.v.	undiluted *	Miyahara (1973)	7
Rabbit Guinea-pig	p.c.	20 ml/kg 14 days	Shaffer (1945)	2
	p.c.	>20 ml/kg >10 ml/kg	Fassett (1967)	3
p.o.; oral, i.p.; intraperitoneal, i.v.; intravenous, p.c.; percutaneous				

経口 LD₅₀ 値は 49.7 ml/kg で、動物の死亡は 2 ないし 4 日目に最も多くみられ、中毒症状は自発運動の減少およびセボレアが主で、死亡する動物に振せん、体温低下がみられ、また高用量投与の生存動物に脱毛が認められた、としている。

著者ら (1975)⁹⁾ は ddy 系雄雌マウスに DEHP を稀釈せずに経口投与し、雄雌ともに 150 g/kg でも動物の死亡を認めず、症状として自発運動の抑制、体毛の油じみたよごれを認めた。Utah 大学がまとめた DEHP の毒性研究報告書¹⁰⁾ では DEHP の原体、超音波処理で仔牛血清あるいはマウス血清に乳化してマウス静脈内投与を行ない、24 時間目の LD₅₀ 値はそれぞれ、1060, 960 および 1400 mg/kg 示した。ラットでは超音波処理で牛血清あるいはラット血清に乳化して投与すると、24 時間目の LD₅₀ 値は 960 および 2080 mg/kg を示した。これらの結果は、用いた血清が使用動物と一致した場合に、その LD₅₀ 値が大きくなることを示している。またマウスに DEHP を稀釈せずに 200 g/kg まで腹腔内に投与したが、死亡発現は遅く、用量と死亡率の関係は定まらず、いずれの用量でも 40% を越えなかった。さらにまた DEHP を稀釈せずに静脈投与を隔日で 30 日間 250, 500, 750 mg/kg の用量で行ない、5, 10, 20, 30 日目の LD₅₀ 値は 610, 410, 355, 355 mg/kg であり、20 日以降では LD₅₀ 値の動かないことを示した。

DEHP に関連して Hodge¹⁾ は 2-Ethyl hexanol の LD₅₀ 値をラットとマウスで求め、ラットの LD₅₀ 値は経口で 2.3 g/kg、腹腔内投与で 0.65 g/kg であり、マウスの腹腔内投与では 0.78 g/kg であり、かつ 2-Ethyl hexanol が著しい麻酔作用を有することを認めた。

Shaffer ら (1945)²⁾ は Wistar 系ラットに pH 7 に調節したフタル酸と 2-Ethyl hexanol を DEHP と同様の方法で乳化剤に分散させて経口投与した。LD₅₀ 値はフタル酸では 7.9 (7.5-8.4) g/kg、2-Ethyl hexanol では 7.1 (5.5-9.1) g/kg を示した。用量-死亡率曲線の勾配はフタル酸では 16.1、2-Ethyl hexanol では 4.1 を示した。一方 DEHP の勾配は 1.9 で、アルコールの勾配とは有意な差はみられないが、酸とは大きく異なり、このことはエステルの有害な作用は酸の部分よりもアルキル部分によって示されることを示唆するとしている。

なお以上の成績を Table 2 にまとめる。

2-2. 吸入毒性・刺激性・抗原性

吸入毒性については Shaffer ら (1945)²⁾ はウサギ 6 匹を用い DEHP を 170° で空気に飽和し、室温に

もどして曝露 chamber に流した。ウサギは2時間までは死亡はみられなかったが、4時間では全例が死亡した。又局所刺激性については Calley ら (1966)⁴⁾ は乳化した DEHP (0.1% 液) をウサギの背部皮内に 0.2 ml 投与し、投与 15 分後耳静脈より 1% Trypan blue を 1 ml/kg 注入して炎症反応を観察した。DEHP は positive control として用いた 20% エチルアルコールと同程度の炎症反応を示した。Shaffer ら (1945)²⁾ はウサギの眼に DEHP を原体のまま 0.5 ml 投与し、眼瞼に一時的なうっ血を見たが、角膜の壊死などはみられずその刺激性は弱いものとしている。また Fassett³⁾ はモルモットを用いて DEHP の刺激性は軽微で、抗原性は無く、ウサギの眼に対する刺激もわずかである、としている。

2-3. 静脈内投与による生体に及ぼす影響

宮原ら (1973)⁷⁾ はイスに DEHP の 0.5, 0.1 ml/kg を静脈内投与し、144 時間まで血液学的、生化学的検索を行なったのち剖検し病理学的検索を行なった。0.5 ml/kg 投与での変化は肺に栓塞を伴う肺実質部の壊死を認めた。さらに Wistar 系ラットの雄に DEHP を原体のまま 0.01~0.25 ml/kg を 1 回静脈内投与し 30 日間観察を行なった。肺における変化は 0.01 ml/kg 以上で血管周囲の組織球性細胞の出現と、これを中心とした肉芽腫形成であった。0.5 ml/kg ではさらに肺胞の破壊を認めた。そしてこれらの障害は血液に不溶な DEHP の栓塞等による物理的な要因によるものではないとしている¹¹⁾。

著者ら (1975)¹²⁾ は Wistar 系ラットの雄に DEHP を静脈内に投与した。DEHP は原体のままで 5, 10, 50 μ l/kg の用量と、超音波処理で調製した DEHP 0.5% ラット血清乳化液を 10 ml (DEHP として 50 μ l)/kg の用量で投与し、30 日間観察を行なった。原体のままの投与での肺の変化は、肺実質毛細管内の油状滴の梗塞、それによる毛細管の拡張及びその周囲の好中球を主とする細胞浸潤で始まり、以後リンパ球、組織球、線維芽細胞の出現、異物巨細胞の出現等、いわゆる異物肉芽の状態を示すが、15 日目では細胞反応は軽減し肉芽も縮小している。これらの変化は油状物質を静脈内投与したために生じた非特異性肉芽性病変と考えられる。なお血清乳化液では変化はほとんどない。また ¹⁴C-ラベルした DEHP の原体 (5 μ l/9.70 μ Ci/100 g b.w.) とラット血清乳化液 (1 ml=DEHP 0.5 μ l/10.9 μ Ci/100 g b.w.) をラット静脈内投与した投与後 6 時間目のオートラジオグラムでは、放射活性を示す部位は原体のままで肺にのみ認められ、血清乳化液では肝および小腸、大腸内容物にみられ肺に

は認められない。

なお Rubin ら (1974)¹³⁾ は DEHP の細網内皮系機能に及ぼす影響を調べる研究で DEHP の静脈投与を超音波処理で水に乳化したものと、Vehicle E (50% DMSO, 5% Tween 80, 45% 生食液) に加えたものと、Vehicle A (25% DMSO, 10% Tween 80, 65% 生食液) に加えたもの (DEHP の粒径はそれぞれ 1.9~2.6 μ , 10.5~42 μ , 完全に可溶化) の 3 種で行なったその実験の中で、可溶化した DEHP の 200 mg/kg では著しい肺水腫を生じ、300 mg/kg ではラットの 50% が窒息で死亡した。Vehicle のみあるいは、DEHP を超音波処理した乳化液では水腫はみられず、また 15% Tween 80 に可溶化した DEHP ではやはり肺水腫を生じた。

水に溶け難い物質を静脈内投与によって生体反応をしらべようとする場合、物質のもつ物理的性状を充分把握して成績を解析する必要がある。

2-4. 亜急性毒性

DEHP の亜急性毒性の報告は比較的多い。経口的に与えた実験では Harris ら (1956)¹⁴⁾ は 2 匹の犬を用い、その 1 匹に DEHP の 5 g/kg/day を胃ゾンデで、他の 1 匹には 0.1 g/kg/day を飼料に混じてそれぞれ 14 日間与えた。5 g/kg/day では体重の軽度な減少と、病理学的検索で慢性胆炎と脾のヘモジデリン沈着を認めた。0.1 g/kg/day は正常であった。Shaffer ら²⁾ は DEHP の 0.0, 0.375, 0.75, 1.5 および 3.0% 添加飼料で 1 群 5 匹のラットを 90 日間飼育し、各群とも死亡はなく、血液学的所見にも変化はみられなかったが、0.75% 以上で成長抑制、1.5 および 3.0% で老年性変化に類似した尿細管萎縮と睪丸の変性が認められた。Nikonow ら (1973)¹⁵⁾ は 1 群雄雌各 10 匹の Wistar 系ラットに DEHP をオリーブ油に溶かし 0.34, 3.4 g/kg/day を 3 カ月間与えた。3.4 g/kg では行動変化 (uncertainty of movement), うとうと状態 (drowsiness), 下痢がみられ、体重減少、毛なみは悪く、75% の死亡を示し、死亡動物には消化管の粘膜剝離、化膿性肺炎、子宮内膜炎がみられている。一方 0.34 g/kg/day では肝の体重比重量の増加のみがみられている。山田ら (1974)⁸⁾ は Wistar 系ラット雄雌に DEHP を 1, 4 および 10 ml/kg を胃ゾンデで 3 週間与えた。10 ml/kg では雄雌とも死亡率は高く、体重減少、肝重量の増加、雌はさらに腎・脾重量の減少を示す。肝では胆管の増生と星細胞の腫大がみられる。4 ml/kg では成長抑制と肝肥大がみられた。なおこの肝肥大には組織学的な異常はみられず、投与を中止した場合 2 週目には回復を示した。さ

らに1群12匹の雄ラットを DEHP の 0.2, 1.0 および 5.0% 添加飼料で3カ月飼育した実験では、5.0% で7週までに全例死亡した。1カ月目の 5.0% では肝重量の増加と精巣の萎縮、肝薬物代謝酵素活性の低下を示す。0.2 および 1.0% では肝、腎重量の増加と肝薬物代謝酵素活性の増加を示した¹⁶⁾。

大田ら¹⁷⁾はマウスを DEHP の 0.25 および 2.5% 添加飼料で90日間飼育し、2.5% では初期体重減少を伴う成長抑制と、両側腎の腫大 (1.5 倍大) と表面凹凸不正形で桑実状のびまん性の囊胞様結節形成をみた。さらに肝の萎縮をみた。山田ら¹⁸⁾ の DEHP 0.5 および 2.5% 添加飼料を21週ラットに与えた実験では、いずれも成長抑制、肝肥大、血清 AIP および尿素窒素の上昇がみられた。2.5% ではさらに精巣の萎縮がみられた。病理組織学的検索では肝細胞の混濁変性や壊死等が、腎では尿細管上皮の混濁変性、細胞質の崩壊や壊死がみられ、精巣では2.5% では精子形成のないことが認められた。

Calley ら (1966)⁴⁾ は4種のフタル酸エステルの中毒量あるいは耐量に相当する 125-500 mg/kg をいずれも乳化液で、マウスに6週間毎日腹腔内投与を行なった。DEHP の 250 mg/kg の用量では成長の遅延、肝重量の増加と精巣重量の減少がみられ、横隔膜と肝および腸の癒着、肝膿瘍を伴う腹膜炎を生じた。この癒着や腹膜炎の発生は、DEHP の皮内投与による刺激性が 20% エチルアルコールと同程度のことからもうなづける結果である。なおフタル酸エステル類の毒性の程度は、エステル類の水溶性 (greater solubility, greater activity) と分子量 (lower molecular weight, greater activity) に関連すると述べている。

2-5. 慢性毒性

報告は少ないがラット、犬およびモルモットでの長期飼育の成績がある。

Carpenter ら (1945)¹⁹⁾ は Sharman 系ラット (P₁) の1群雄雌各32匹を DEHP の 0.0, 0.04, 0.13, および 0.4% 添加飼料で2年間飼育した。またこの P₁ の対照群と 0.4% のそれぞれの雄雌を交配し一世代の仔 (F₁) の雄雌各32匹に親と同じ飼料を与え1年間飼育した。死亡率は P₁ ではいずれの群でも高く、また F₁ でも 40% 台であるが、両世代共に対照群と各処置群との間には差はない。体重では P₁, F₁ の 0.4% が対照より有意に減少を示した。肝腎の重量は1年目の P₁ の 0.4% 雄と F₁ の 0.4% 雄雌で有意な増加がみられ、また受精率では F₁ の 0.4% に平均産仔数の減少がみられた。なお摂飼量、血液学的所見、病理組織学的所見、腫瘍の発生では対照群と各処置群で

差はない。モルモット1群雄雌22-24匹を DEHP の 0.0, 0.04 および 0.13% 添加飼料で1年間飼育した場合、0.04 および 0.13% の雌の肝体重比が対照より有意に増加を示したが両処置間の差はなく雄雌一緒にして推計処理した場合には 0.13% のみ有意であった。死亡率、平均寿命、体重、摂飼量および病理組織学的所見では対照群と処置群で差をみない。また犬を用いた1年間の経口投与実験では、14~17カ月令の4匹のコッカスパニエルと4匹のテリアを2群一別け、1群を対照群として、もう一方の群に DEHP をカプセルで1週間5日投与した。投与量は最初の19回は 0.03 ml/kg/day を、その後240回は 0.06 ml/kg/day とした。体重、肝・腎重量で両群の間に差はなく、病理組織学的検索で処置群の1匹に腎尿細管変性がごく軽度にもみられた。この実験では、さらに1匹の雑犬に 0.06 ml/kg/day を77回投与したが影響がみられないので、0.09 ml/kg/day に増量して169回投与した。この犬の体重は増加しており、病理組織学的検索では、肝に脂肪空胞化 (fatty vacuolation) と被膜下線にわずかなうっ血、腎に混濁腫脹と中程度のうっ血がみられた。Harris ら (1956)¹⁴⁾ は1群雄雌各43匹の Wistar 系ラットに DEHP を 0.0, 0.1 および 0.5% 添加飼料を2年間与え、3, 6, 12カ月と24カ月目に生残ったすべての動物を解剖した。動物の死亡はいずれの群も高く差をみないが、0.5% では成長抑制、摂飼量の低下が認められ、3, 6カ月目の肝、腎の重量が増加した。0.1% では対照と差はなく、病理学的検索でも対照群と処置群の間に差をみない。Nikonow ら (1973)¹⁵⁾ は1群雄雌各20匹の Wistar 系ラットに 0.35% DEHP 添加飼料を1年間与えた。0.35% では死亡率の増加、成長抑制、肝の体重比の増加がみられ、病理組織学的所見で肝、腎、脾に変化がみられている。

なお慢性毒性研究より DEHP の動物への無作用量については、Carpenter ら (1953)¹⁹⁾ はラットの no effect level は完全には明確にできないが、0.13% と 0.4% 濃度のあいだあるいは 0.06 と 0.2 g/kg/day の間にあり、モルモットでは1年間の no effect level は 0.06 g/kg/day、犬でのそれは約 0.06 ml/kg/day であるとしている。また Harris ら¹⁴⁾ は14日間の犬で 0.1 g/kg/day であるとしている。

なお Gesler (1973)²⁰⁾ がフタル酸エステル類の慢性毒性試験についてまとめた表を Table 3 に引用した。

2-6. 人における知見

Shaffer ら (1945)²⁾ は代謝研究において若い男性に DEHP をそれぞれ 5g および 10g 1回服用させ

Table 3. Summary of chronic toxicity data on the phthalate esters

Phthalate ester	Animal species	Number of animals in study		Study duration, weeks	No-effect level		Toxic signs*
		Controls	RX		% in diet	mg/kg/day	
Dialkyl 79	Rat	30	120	13	0.125	60	Growth retardation, increased kidney and liver weight
Di-n-butyl	Rat	10	40	52	0.25	110-330	Death at 1.25%
Di-2-ethyl-hexyl	Rat	5	20	13	0.375	200	Growth retardation, testicular degeneration, tubular atrophy
	Rat	**	272	104	0.13-0.4	60-200	Growth retardation, increased kidney and liver weight
		86	172	to 104	0.1	40-80	Same
	Guinea pig	46	93	52	0.13	60	Increased liver weight in females only
	Dog	4	5	52	—	59	Fatty vacuolization and congestion in subcapsular area of liver and moderate kidney congestion
	Dog	0	2	14	—	100	Weight loss and cholecystitis reported in one dog

* At higher than no-effect level.

** Number not given but "appropriate controls" were included in the study.

た。10 g を飲んだ場合、軽い胃障害とおだやかな下痢を生じたが、5 g の場合には何らの症状も認められなかった。また刺激性をしらべるため、DEHP を稀釈せずに 23 人の背部皮膚に 7 日間パッチテストを行ない、さらに 10 日後、前と同じスポットに繰返した。

このテスト中に、紅斑や、その他の反応は認められなかった。その他、人における確実な量による毒性は知られていない。

以上、毒性に関連する成績を示した。これらの成績より DEHP は、急性毒性では各投与経路で、いずれもその毒性の低いことが認められた。刺激性については、人でのパッチテストでは認められず、腹腔内あるいは皮内投与で炎症が認められることから、刺激性の程度はそれ程強くないと言える。亜急性ならびに慢性毒性における target organ は肝、腎、精巣であることが示されている。その無作用量については、一応提唱されているが、その根拠となる実験は比較的古い時代においてなされたものであり、この面については、

なお詳細な検討が望まれる。

(鈴木)

3. 癌 原 性

近年フタル酸エステルの毒性が注目される様になり、長期毒性、催奇形性等に関する報告は他章に詳述されているが、癌原性に関する報告は少ない。世界各口で現在迄に癌原性をテストされた化学物質の調査表が米国国立癌研究所より刊行されており、現在 1971 年迄の資料が収載されているが、それによると、ジメチル¹⁻³⁾、ジエチルヘキシル⁴⁻⁶⁾、ジブチル⁷⁾、ジブトキシエチル⁸⁾、及びジカプリルフタレート⁹⁾ の 5 種類のフタル酸エステルについての報告がある。

Draize ら¹⁾ は、鶏、兎、ラット、マウス及びモルモットを用い、ジメチルフタレート原体を毎日それぞれの動物の皮下に注射し、90 日間観察したが、一例の腫瘍発生も認めていない。Haag ら^{2,3)} も兎に 3 ml/kg のジメチルフタレートを皮下注射し、13 週の観察で腫瘍発生がなかったと報告している。DEHP に関し

では、Carpenter ら⁴⁾ は 0.03~0.09ml/kg をゼラチンカプセルに入れ、毎日犬に経口投与、0.13~0.04% あるいは 0.4%~0.04% の添加飼料としてモルモットあるいはラットにそれぞれ経口投与、1年ないし2年間観察したが何れも腫瘍発生をみていない。Harris ら⁵⁾ も 0.1% あるいは 0.5% 添加飼料をラットに与え2年間飼育したが、検体に原因すると思われる腫瘍発生はみなかったと報告している。Hodge ら⁶⁾ も同じく 35, 100 及び 300ppm の DEHP 添加飼料でラットを飼育し、同様の結果を述べている。Smith⁷⁾ はジブチルフタレート を 0.01~1.25% 添加飼料にして、ラットを一年間飼育観察し、全く腫瘍の発生をみなかったと報告している。Mallette, von Hamm⁸⁾ は、6mg/kg のジブトキシエチル、あるいはジカプリルフタートをラット腹腔内に投与し、1カ月の観察で異常をみなかったという。以上現在迄のフタル酸エステルの癌原性に関する報告では、何れに於てもその癌原性は証明されていない。

(小田嶋, 前川)

4. 催奇性

種々のフタル酸エステルについて、催奇性試験が行なわれている。

Bower ら¹⁾ は鶏胚を用い、6種のフタル酸エステル類について実験し、鶏胚死亡率は対照群に比べてフタル酸エステル処置群が有意に高い値を示したとしているが、DEHP 処置群の死亡率は対照群のそれよりかなり低い値である。奇形発生については、使用したフタレートのうちジブトキシエチルフタレートについてのみ見られ、症例としては頭蓋破裂、無眼球、眼球突出、嘴の変形等で、出生したヒナでは歩行不全あるいは起立不能のものが観察されたと報告している。Peters & Cook²⁾ は DBP, DMP および DEHP についてラットを用い、これらのエステルの 0.5~4 ml を妊娠初期に腹腔内注射してその影響を検討し、DEHP は着床や分娩に影響が見られたが、F₁ の繁殖率には影響が見られなかったとしており、他の2種のフタレートのうち DMP については哺育率において対照群と差が見られなかったという記載のみで、DBP については何ら説明がなされていない。

Singh ら³⁾ は8種のフタレートのラットにおける催奇性を検索している。投与量は各フタレートの腹腔内注射による LD₅₀ の 1/10, 1/5, 1/3 量、ただし DnOP および DEHP では同じく LD₅₀ が 50 ml/kg 以上であったためそれぞれ 5, 10 ml/kg とし、妊娠 5, 10 および15日目に腹腔内に投与している。胎仔死亡率は

使用した8種のうちジメトキシフタレートが最も高く、生存胎仔の体重では、フタレート処置群が対照群に比べて有意に低い値が得られ、外形奇形としては、無尾、無眼球、外反足等で、骨格では頭骨異常、肋骨癒合がよく見られた異常であったと述べている。一方、Nikonorow ら⁴⁾ は DEHP を1日当り 0.12, 0.6 g, DnOP 0.02, 0.04 g を3カ月間雌ラットに交配直前まで投与、または妊娠期間中 DEHP 0.34, 1.7 g, DBP 0.02, 0.04 g を経口投与し、その胎仔に及ぼす影響を検討し、胎仔死亡数の増加は見られたが、奇形は認められなかったと報告している。更に、中山ら⁵⁾ の DEHP 1~10 ml/kg を妊娠7~13日までラットに経口投与した実験においても、胎仔死亡率の増加は認められているが、奇形発生率は0である。

世代試験では、DBP および DEHP についての報告が 2, 3 ある。

DBP 1 ml/kg/day あるいは 100~500 mg/kg/day 飼料混入によるラットを用いての3~5世代にわたる成績において特に影響は見られていない⁶⁾。DEHP については、その 0.4% 飼料添加群の F₁ において出産率の低下が見られたという報告があるが、500 mg/kg の割合で飼料から摂取するようにしての4世代にわたる実験では特に影響は認められていない⁶⁾。しかし、恩田ら⁷⁾ は DEHP, DBP (10, 100 mg/kg/day, 飼料混入) についてマウスを用いての3世代にわたる実験において、F₁, F₂ に肉眼的に確認し得る腎囊胞形成が観察され、その発生頻度は DEHP において高率であったと報告している。

以上から、フタル酸エステル類は実験的にある一定用量以上では確かに胎仔生存あるいは発育に影響を及ぼすようであるが、奇形発生に関しては使用する動物種ないしは投与経路が重要な因子と思われ、今後解明されるべき問題があろう。

(大森, 桑村)

5. 細胞毒性等

5-1. 培養細胞の増殖並びに分裂期染色体に及ぼす影響

プラスチックあるいはその原料の細胞毒性を検索する方法に、哺乳動物細胞の培養系が用いられるようになったのは Guess らの報告にはじまる¹⁾。特にフタル酸エステル類については、その後マウスの線維芽細胞 (L 細胞)²⁾、鶏胚細胞 (CE 細胞)³⁾、ラットの腫瘍 (YS 細胞)⁴⁾ あるいは、人の正常または癌細胞 (WI-38⁵⁾ または KB 細胞⁶⁾ などを材料とする細胞増殖抑制試験が行われて来た。しかしながら、得られた結果

を通覧すると、たとえ同じ検体を用いても、細胞の種類や培養条件によって必ずしも同じ毒性を示していない。特に、アルキル基の長い非水溶性の検体については、使用した溶媒あるいは培養液の組成によって、細胞に及ぼす影響が大きく左右されるためと思われる⁷⁾。

哺乳動物培養細胞を用いて、細胞学的検索を行うためには、次の様な方法が用いられている。

(1) 細胞増殖抑制試験

- a) 細胞数を直接計測する方法⁸⁾。
- b) ³H-thymidine のとりこみ量を指標とする方法⁷⁾。蛋白質の定量法もこれに準ずる。
- c) 細胞コロニー形成阻止法⁹⁾。
- d) 単層培養細胞上に Agar を播き、その上に検体を置き、死滅細胞域の大きさによって判定する方法⁹⁾。

(2) 細胞遺伝学的検索法¹⁰⁾

- a) 薬剤耐性株あるいは特殊な栄養要求細胞を用いて、検体による変異細胞を分離する方法。
- b) 試験管内発癌実験
- c) 染色体異常誘発試験

以上のうち、細胞増殖抑制試験は検体の細胞致死濃度を検定したり、または、細胞毒性の強さについて、多くの検体を比較するような目的の場合には、有用な方法である。しかしながら、細胞毒性効果はいかなる薬物にも見受けられるばかりではなく、培養細胞の増殖を左右する因子は検体を加えることによって附随的に起る他の諸条件にも存在する。pH の変化もその一つであるが、特にコロニー形成を指標として観察する場合などでは、検体の種類によって、細胞のガラス面の附着性が阻害されただけで細胞は死滅する可能性もある。これに対し、細胞遺伝学的検索法においては、いずれも、単に細胞の増殖抑制を指標とせず、細胞が増殖する過程にあって、検体がどのような作用機序を持ち得るかについて、定量的にも、また定性的にも検索し得る利点を持っている。実際、ある検体に果して癌原性あるいは催奇形性があるか否かを考慮する場合には、むしろ細胞毒性が弱くとも、細胞を構成する遺伝学的組成、あるいはその機能の発現に異常が起こり得るかについて検討を加えるべきである。従来、フタル酸エステルに関しては、急性または慢性毒性に関する報告はかなりあるが、上記のような細胞レベルにおける特殊毒性試験についてはなお不十分な点が多いと思われる。

最近の WHO 技術報告書 (No. 482) によると、環境汚染物質の変異原性を評価する方法の 1 つとして哺乳動物細胞における染色体異常の誘発性に関する検索

法がとり上げられている¹¹⁾。染色体の観察には多少の経験と労力を要するが、2, a) および b)) にかかげた検索法に比べれば、種々の検体を短期間に処理し得る利点を持つ。

我々は従来、既に変異原性または癌原性が確かめられたものを含めて約 90 種類の化合物につき、染色体異常の誘発能の有無を比較検討して来た。その結果、特に生体内で代謝、活性化され得る化合物を除けば、殆どすべての癌原性物質、あるいは変異原物質に染色体異常を誘発する性質のあることがわかった¹²⁾。哺乳動物培養細胞として我々はチャイニーズ・ハムスター線維芽細胞を用いたが、培養が比較的簡単である上、染色体数が少く、また、他の哺乳動物細胞に比べて種々薬物に対する感受性が高い点などの特徴を持っている。

以下、フタル酸エステル 4 種について、我々が検索を行った結果について紹介する。

1. 検体の種類及び調製

- 1) Di-ethyl phthalate (DEP, 大八化学)
- 2) Di-*n*-butyl phthalate (DBP, 協和醗酵)
- 3) Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP, 協和醗酵)
- 4) Butylphthalyl butyl glycolate (BPBG, 弥栄化学)

いずれも 2% Albumin, Bovine (Sigma) を加え超音波処理によって乳化し、培養液中の最終濃度 0.2% Albumin になるように調製した。

2. 培養細胞及び培養条件

癌研究所、宇多小路博士によって、幼若チャイニーズ・ハムスター肺組織から分離された線維芽細胞株 (CHL), 及び、我々が更に分離した単一細胞株 (KC-1) 細胞を用いた、共に染色体モード数 25 本 (偽 2 倍体) を示し、10% 牛血清を含む MEM (Eagle) 培地中で、シャーレ・ガラス面に一層を成して増殖する。37°, 5% CO₂ 条件下で 5 日目毎に継代した。(Photo 1, Photo 2 参照)

3. その他の細胞

DEHP に限って、ACI/N 雌ラットの骨髓細胞、あるいは、呑竜ラットに移植された腹水肝癌 AH-13 細胞の染色体に及ぼす影響について補足的観察を加えた。

4. 実験結果

(1) 細胞増殖抑制試験

- a) DEHP の KC-1 細胞コロニー形成に及ぼす影響

径 6 cm のガラス・シャーレに KC-1 細胞約 400 コ

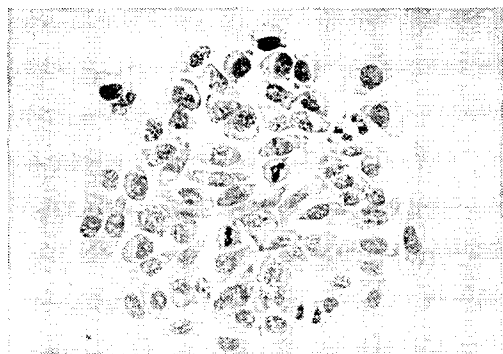


Photo 1. Colony forming cells of KC-1 cell line

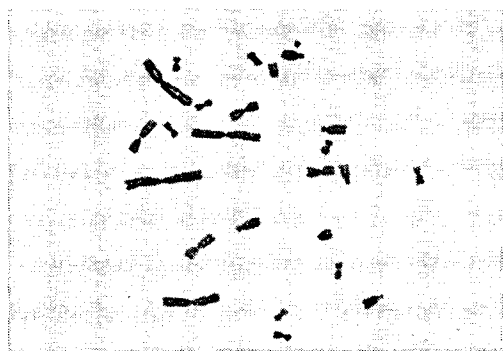


Photo 2. Karyotype of KC-1 cell with 25 chromosomes. 48 hrs after the treatment of 0.08 mg/ml DEHP. No chromosomal aberrations were observed.

を播き、細胞が附着して2日後、種々の濃度の DEHP を加え、更に5日間培養した後、形成されたコロニー数を計測した。0.025 mg/ml でやや抑制され、0.050 mg/ml で約 50% 抑制され、0.100 mg/ml ではコロニー形成は見られなかった。

同時に、任意に選ばれた3つのコロニーについて、それぞれ構成細胞数を経目的に記録したが、細胞数の消長とコロニー形成率との間に相関が見られた。(Fig. 1.)

b) DEP, DBP, DEHP, BPBG の CHL 細胞に対する増殖抑制率の比較

Lab-tek スライド (4 chambers) に CHL 細胞約 10^4 を播き、3日目に種々濃度の検体を加え、更に3日間培養した後、ホルマリンで固定し、クリスタル・バイオレットで染色した。我々の考案した細胞密度計 (仮称) によって、染色色素の吸収率から残存する細胞数を百分率で示した (Table 4)。本密度計は目下試作中のものであるが、その測定値は実際の細胞増殖数と比例関係にある¹³⁾。表からわかるように、細胞毒性の順位は DBP>DEHP>BPBG>DEP であった。この場合、同じ DEHP でも上記コロニー形成試験と比べて毒性が低目に出るのは細胞数の違いによるものと思われる。

(2) 細胞分裂期における染色体異常の観察

a) チャイニーズ・ハムスター培養細胞における染色体異常

Table 4. Cytotoxicity of phthalate esters on Chinese hamster cells *in vitro*—a comparative study*¹

Dose (mg/ml)	Per cent inhibition of cell growth			
	DEP	DBP	DEHP	BPBG
Control (0.2% albumin)	0	0	0	0
0.007	—* ²	7	—	—
0.015	—	0	0	0
0.031	—	25	16	4
0.062	0	89	42	0
0.125	0	95	51	14
0.250	16	—	80	71
0.500	95	—	91	85
1.000	96	—	—	—
2.000	96	—	—	—

*¹ Calculated by "cell densitometer"

*² Not tested

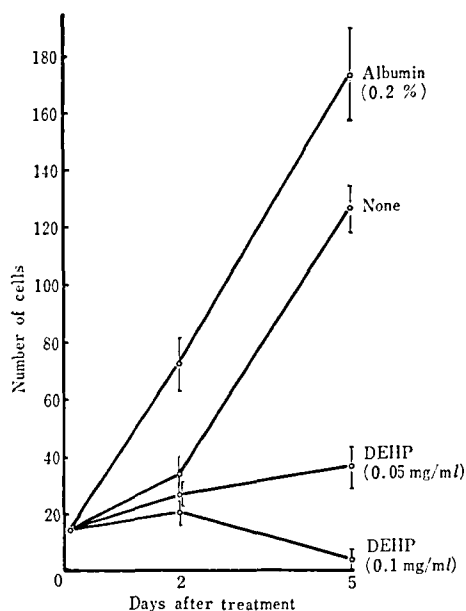


Fig. 1. Cell count in individual colony

細胞約 2×10^4 コをシャーレに播き、培養 3 日目に各検体の 50% 増殖抑制濃度を基準として加え、6 あるいは 24、及び、48 時間後に染色体標本作製した。標本の作製にあたっては、細胞をあらかじめコルセミ

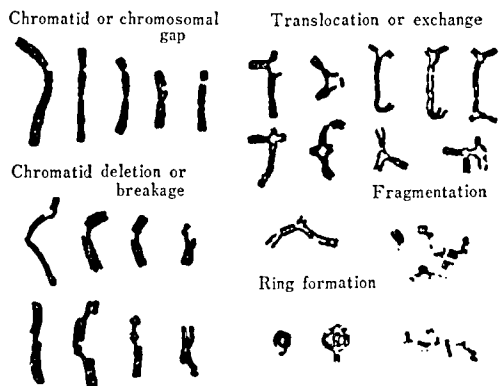


Fig. 2. Various types of aberration

ド ($0.2 \mu\text{g/ml}$) で処理し (2 時間)、0.25% トリプシンで細胞を剥離した後、0.075 M KCl 溶液で低張処理 (13 分間) し、カルノイ液で固定してギムザ染色を施した。各標本につき 100 コの中期分裂像を観察し、染色体異常 (Fig. 2) が 1 コでも見受けられた細胞を陽性細胞 1 コとして記録した。無処理対照細胞には 3% 以上の異常は見受けられないため、最終的には、異常が 5% 以上出現し、しかも、加えられた濃度に依存性が認められた場合に限って陽性と判定した。得られた結果を Table 5 に要約する。DEP および DEHP

Table 5. Incidence of chromosomal aberration induced by phthalate esters in cultured Chinese hamster cells

Compound	Dose (mg/ml)	Cell No. observed	Chromosomal aberration (%)			Judgement* ¹
			6h	24h	48h	
DEP	0.125	100	—	1.0(g.)	0.0	(—)
	0.250	100	—	1.0(g.)	0.0	(—)
	0.500	(D)	—	(D)	(D)	(D)* ³
DBP	0.0157	100	—	1.0(g.)	0.0	(—)
	0.0313	200* ²	—	3.5(g.)	1.5(g.b.)	(±)
	0.0625	200	—	2.0(g.)	0.0	(—)
DEHP	0.040	100	1.0(g.)	0.0	0.0	(—)
	0.080	100	0.0	0.0	0.0	(—)
	0.160	100	0.0	0.0	0.0	(—)
BPBG	0.062	200	—	2.5(g.b.)* ⁴	2.5(g.)	(—)
	0.125	200	—	4.5(g.)	3.5(g.)	(±)
	0.250	(D)	—	(D)	(D)	(D)
Control	Saline	300	—	0.7	0.3	(—)
	Albumin	400	—	1.0	1.2	(—)

*¹ Significantly positive: More than 5.0%*² 100 for each of two experiments*³ Cell death or no mitosis*⁴ (g.): Chromatid gap, (b.): Chromatid break

は共に陰性であったが DBP および BPBG は偽陽性であった。後 2 者については更に追加検討する予定である。倍数体細胞の出現率には、いずれの群でも有意差は認められなかった。

b) ラット骨髄細胞染色体に及ぼす DEHP の影響
成熟雌 ACl/N ラット数匹を用い、腹腔内に DEHP 5~10 g/kg を投与し、24 及び 48 時間後に大腿骨より骨髄細胞を採取した。in vitro で 30 分間コルセミドを作用させ、以下、培養細胞の場合と同様に染色体標本を作製した。中期分裂像 100 コにつき異常の有無を観察したが、いずれの群にも対照群と比べて有意的差が認められなかった。

c) ラット AH-13 細胞の分裂期染色体に及ぼす DEHP の影響

雌呑竜ラットに AH-13 細胞 (約 5×10^5) を腹腔内に移植し、3 日目、純培養時期に DEHP 0.2~2.0 g/ラット (4 群) を同じく腹腔内に投与した。投与後、3 日間、毎日ギームザ塗抹標本を作製し、細胞分裂中期及び後期に見られる染色体異常の有無を記録した。検体を投与することによって細胞質内に顆粒状物質が蓄積する傾向を示したが、この物質がグリコーゲン顆粒であるか、DEHP の貧食によるものか明らかではない。本細胞は種々の薬剤 (特に化学療法剤) に対して比較的感受性の高い腫瘍系として知られているが、中期及び後期分裂像において何ら染色体異常は認められなかった。

以上の我々の実験からもわかるように、フタル酸エステルは培養細胞の増殖を抑制するが、その濃度は検体の種類によって異なっている。我々の行ったチャイニーズ・ハムスターを用いる実験条件下では、DEP では 0.250 mg/ml 以上、DBP では 0.0313 mg/ml 以上、DEHP では DBP と同じく、BPBG では 0.125 mg/ml 以上の濃度で抑制を示した。その毒性の順位は DBP>DEHP>BPBG>DEP であった。しかしながら、細胞増殖を明らかに抑制する濃度にあっても、いずれも細胞分裂期における染色体異常の誘導作用は極めて少なかった。特に DBP 及び BPBG において数 % の異常の出現を見たが、必ずしも加えられた検体の濃度に依存性が見られず、しかも異常の種類の殆どが染色分体における切断 (gap) に属するものであった。これらの所見は、他の変異原または癌原性物質によって誘導される異常出現率と比較して殆ど無視出来る程度の変化であると思われるが、更に再検討を行う予定である。

フタル酸エステルの哺乳動物細胞染色体に及ぼす影

響に関する報告は殆どないと言ってよい。Stenchever らは人白血球を PHA 存在下で培養し、種々濃度で DEHP の染色体に及ぼす影響を観察しているが、現在までに得られた知見では、高濃度 60.0 μ g/ml 2 時間処理群で女性の細胞に限って僅かながら異常を認めたとする⁹⁾。しかしながら、その再現性については確認しておらず、今後の報告を待たねばならない。本邦においては、本年度より厚生省がん研究助成金のもとに「遺伝変異原性を主とする発癌物質スクリーニングの技術開発」班 (班長、国立がんセンター生化学部長、河内卓) が発足し、年間に取り扱う検体 30 種類のうちにフタル酸エステル DEHP 及び DBP が含まれている。培養細胞あるいは小動物の骨髄細胞の染色体に及ぼす影響のみならず、細菌を用いるいくつかの変異原性検索法による実験によって、近いうちにはこの分野における総合的見解が持たられることと思う。

5-2. 変異原性

微生物を主体としたフタル酸エステルに関する研究は現在まで、フタル酸資化株の分離¹⁴⁾ や *Pseudomonads* S.P.P. による酸化分解過程¹⁵⁾ が報告されているにすぎなく、しかもフタル酸およびフタル酸エステルの変異原性に関する報告は著者らの知る限り現在まで皆無であろう。倉田、吉川¹⁶⁾ は 12 種類のフタル酸エステルに対して、枯草菌と大腸菌を利用した致死感受性試験および 4 種類の大腸菌を用いた突然変異誘発試験を実施した。その結果フタル酸およびフタル酸エステルによる致死感受性試験は 5~100 mg/plate の濃度においてすべて陰性結果を示した。フタル酸およびフタル酸エステルによる大腸菌 *H/r arg⁻* 株、*Hs arg⁻ exc⁻* 株、*Olb arg⁻ pol⁻* 株および *NG30 arg⁻ nec⁻* 株の突然変異誘発試験結果においては、10~30 mg/plate の濃度ですべて陰性結果が認められた。これらの結果から本実験で使用した菌株に対するフタル酸エステルによる変異原性は認められないものと結論した。なお、本実験に positive control として用いた 4NQO は致死感受性試験および突然変異誘発試験において、それぞれ 0.005 および 0.01 mg/plate で陽性であった。

Singh ら¹⁷⁾ はマウスを用い、優性致死法で DEHP およびジメトキシエチルフタレートについて検討し、両者とも精子に影響を与えるという結論を得ている。また Petersen ら⁹⁾ も DEHP について同様の方法でこれを支持するような成績を報告しているが、奇形はなく、また哺育仔について実施した電気ショック実験でも異常は観察されていない。しかし、投与量、投与経路に議論はあるにせよ、ある種のフタル酸エステルの

変異原性に注目しておく必要はあると述べている。

(石館)

6. 血液に及ぼす影響・薬理作用

6-1. 血液に及ぼす影響

輸血用管類にゴム製品が使用されていた頃には、輸血操作した領域に静脈炎が多発した。これはゴムの弾性を増すために加えられているイオウがその主因であることが明らかにされ¹⁾、塩ビ製品を使用することによりこの種の障害は著しく減少した²⁾。しかしながら、塩ビ製バッグに保存した血液の輸血によるいわゆる“肺ショック”説が出て、これはバッグ中に溶出した可塑剤によるマイクロエンボリーに起因するのではなからうかという疑いが持たれ³⁾、ここに新たな問題が提起されるに至った。

血液保存について、プラスチック容器とガラスびんとを比較した場合、ガラスびんの方がプラスチック容器より長く保存でき⁴⁾、プラスチック容器によっては赤血球を損傷し、輸血後の生存率が低下させたり⁵⁾、あるいは多血小板血漿をプラスチック容器に保存した場合はガラスびんに比べて凝集性の低下が見られ⁶⁾、また、プラスチック容器の生理食塩液抽出液が溶血性を示したという報告⁷⁾がある。しかしながら、Walter ら⁸⁾は 4°、21~23 日間塩ビ製バッグに保存した血液 100 ml 中に 11.5 mg の可塑剤 DEHP が溶出したが、この際の赤血球生存率は、NIH の最小許容限度 70% を上回り 82% であったとし、Valeri ら⁹⁾も血小板の機能あるいはその生存性に対して DEHP の影響は認められなかったと報告している。また、笹川ら¹⁰⁾は、ガラスびんとプラスチック容器保存血の赤血球膜抵抗性を比較検討して後者に保存した場合に好ましい結果を得ている。

一方、宮原ら¹¹⁾はイスに DEHP の原体 500 mg/kg を静脈内投与したとき、溶血性の亢進は見られなかったが、一過性の赤血球数、白血球数の増加ならびにヘマトクリット値の上昇を見ている。Mallette ら¹²⁾はウサギに DEHP の懸濁液 1.8 g/kg を腹腔内投与した場合、白血球数増加、貧血、血尿の招来を観察し、Jaeger ら¹³⁾は DEHP の血小板への影響を示唆する成績を得ている。

著者ら¹⁴⁾は、DEHP を 0.05% Tween 80-生理食液に 5% の割合に混じ、超音波発生装置で粒子径 2.5~25 μ の乳化液を調製し、DEHP として 50~250 mg/kg をウサギに静注してその赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、全血比重、血清総蛋白量、血清カルシウム量、更に血液凝

固能に及ぼす影響を検索する目的で、血漿カルシウム再加凝固時間、プロスロブンプン時間およびスロブエラストグラムから検討した。これらについて、DEHP 125, 250 mg/kg 1回静注後 4 時間目および 1, 2, 4, 7, 14 および 28 日目ならびに 50, 100 mg/kg を週 2 回、14 週間にわたり反復投与してその影響を調べたが、1 回投与のみならず反復投与実験においても全検査項目を通して DEHP によると考えられる変化は見出されなかった。また、医療用具に用いられるプラスチックすなわち塩化ビニール (2 種類)、テフロン、ポリアセタール、ナイロンおよびハイドロンの 6 種について、ウサギを用い、これらの小片を頸動脈を介して大動脈弓部近くに常に循環血に触れる状態に埋没して、上述した血液に対する影響を長期間にわたり検索したが、本実験においても特に変化は観察されなかった^{15,16)}。

Jaeger ら¹³⁾は 4°、21 日間塩ビ製バッグに保存した血液 100 ml 中に約 5.8 mg の DEHP を検出し、このものの血液に及ぼす影響を示唆しているが、1 回の輸血量を 200 ml とした場合、DEHP 含量は約 11.6 mg となる。ヒトの平均体重を 60 kg とすれば、1 回の輸血で約 0.2 mg/kg の DEHP が投与されることになる。著者らの実験で用いた最大投与量 250 mg/kg はこれの 1,250 倍に相当する。しかしながら、小野ら¹⁷⁾が指摘しているように、人工腎臓使用患者の場合長年月にわたり血液透析が行なわれるので、血液回路からの可塑剤の血中への溶出については十分検討されるべきであろう。

6-2. 薬理作用

Guess & Autian¹⁸⁾は医療用塩ビ管から生理食塩液またはアルコールで 50°、1 週間抽出した液、ただしアルコール抽出液では抽出後アルコールを揮散せしめた残留物を 3% アラビアゴムに懸濁した液についてヘキソバルビタール睡眠、血圧、坐骨神経一筋標本に及ぼす影響を検索している。マウスにおける睡眠時間はこれらの抽出液により延長し、ウサギ血圧の下降、ラット坐骨神経一筋標本では交叉反射が抑制されること、ならびに急性毒性試験の成績とを総合して、これらの抽出液は中枢神経系に対して抑制的に作用する物質を含有していると結論した。更にまた Calley ら¹⁹⁾は、ウサギにおける脳波所見から中枢抑制作用が確認できたとし、また一方、ウサギ皮膚の色素漏出試験から、これらの抽出液は局所刺激作用をも有することを明らかにした。Daniel & Bratt²⁰⁾は DEHP を反復 5 日間経口投与したラットではヘキソバルビタール睡眠時間が 30~40% 短縮し、静注時では逆に約 40%

延長したとし、反復経口投与時には肝重量増加が見られたことから、この際の睡眠時間短縮は、肝の滑面小胞体に局在するとされている薬物代謝酵素活性の上昇によるものであろうと推論し、Lawrence ら²¹⁾も同様の知見を得ている。

プラスチック製品の毒性に関して、Brower & Bryant²²⁾ はその毒性試験法のひとつとして試料片の生体組織内埋没法を考案し、本法により医療用プラスチック製品について試験を行なったところ、用いた試料中には非常に激しい組織反応を示した例があったと報告している。Lawrence ら²¹⁾ も同様の方法で試験した48種の試料中約半数の25試料に反応を認めている。毒性の発現にはプラスチック中に含まれるひとつあるいはそれ以上の成分の関与が示唆されている²³⁾。

著者ら^{24,25)}も近年医療用プラスチックであるポリカーボネート、ポリプロピレン、ポリエチレンについてそれらの生理食塩液あるいはアルコール抽出試料液の急性毒性試験、皮内反応試験、発熱性物質試験、更にこれらプラスチック片の埋没試験を実施して来たが、Brower & Bryant²²⁾、Lawrence ら²¹⁾ の成績と異なり、用いた試料のいずれにおいても陰性の結果を得ており、これは恐らく彼らが使用した試料が、われわれが用いた試料と異なり、初期のプラスチック製品であったことに起因するのかも知れない。しかしながら、Hillman ら²⁶⁾ の最近の報告によると、新生児の壊疽性腸炎は、出生時における塩ビ製血液バッグに保存されていた血液による輸血との関連性が示唆されている。すなわち、腸炎部組織中に塩ビの可塑性剤である DEHP が炎症の見られなかった新生児の組織に比し5~10倍も高い値で検出された知見から疑いがもたれ、周産期の医療でこの問題は十分考慮されるべきであると述べている。

DBP および DEHP 静注時の呼吸、循環器系への影響ならびに灌流標本による末梢血管に対する作用が宮原ら¹¹⁾により報告されている。DBP の原体 0.1~0.2 ml/kg をイスに静注するとき、心拍数の減少を伴う血圧の下降、呼吸数の著明な増加が認められ、DEHP についても同様の傾向であり、また、イス後肢灌流標本において、DBP で灌流圧は下降し、血管拡張作用を示唆する成績を得ている。著者ら¹⁴⁾は粒子径 2.5~25 μ の DEHP 乳化液を調製し、DEHP として 25~250 mg/kg をウレタン麻醉ウサギに静注して、その呼吸、血圧、心拍数への影響を観察した。100 mg/kg 以下では特に変化は見られなかったが、250 mg/kg では、血圧は投与直後から下降しはじめ5分後に約 10 mm Hg 低下した。この状態は約15分間持続したのち

回復に向い、20~30分 でほぼ投与前のレベルとなった。心拍数および呼吸にはほとんど変化が認められなかった。血圧下降に関しては宮原ら¹¹⁾と同様の結果を得たわけで、この降圧機序については検討を加えなかったが、Calley ら¹⁹⁾ はウサギに DEHP 懸濁液 250 mg/kg 静注して血圧下降を観察し、心電図およびベクトル解析から、DEHP は直接心臓に作用するのではないだろうとしている。ところが、摘出ラット心灌流標本による実験²⁷⁾ では、DEHP 乳化液は心拍出量ならびに心拍数に変化を与えているので、DEHP の心への直接作用も否定できないであろう。

なお、宮原らの実験では呼吸への影響が認められたが、著者らの実験では見られなかった。この種の油状物の生体内投与に当ってはその剤形についても考慮されるべきであろう。事実、Rubin & Schulz²⁸⁾ は粒子径の大きい DEHP をラットに静注した場合、肺に著明な浮腫が生じ、粒子径が小さい場合には浮腫が見られなかったことから、DEHP の毒性について研究する際には、投与時の液の状態についての吟味の必要性を強調している。

(大森、桑村)

7. 代 謝

DEHP の代謝に関する研究は1945年、Shaffer ら¹⁾ がヒト、ウサギの尿中排泄についての知見を報告しているのみで、1970年代に入るまでは、ほとんどその詳細な報告をみない。

1970年に至り、ようやく Jaeger, Rubin ら²⁾ のラット肝の灌流実験の結果から DEHP は代謝されないものと一時期考えられていたが、1971年にウシ、イス、ウサギ、ラットの心筋のミトコンドリア中に DEHP が発見され³⁾、その後哺乳動物について DEHP の代謝研究が盛んになるにつれ、Schulz, Rubin ら⁴⁾ は DEHP は極めて早く代謝されることを改めて確認し、前述の結論は訂正された。

さらにアメリカ、英国などにおいて DEHP の代謝に関する研究が活発におこなわれ、今日までに DEHP の代謝像がかなり明らかにされてきた。

著者らの研究班も 1972 年以来、DEHP のラットによる代謝の研究をおこなってきたので⁵⁾、これらの仕事を中心として DEHP に関連する代謝研究の概要を横観して見ようと思う。

7-1. 吸収と排泄

DEHP は経口投与、静脈内投与のいずれの場合もすみやかに吸収され、ラットでは 5~7 日にわたって投与量の約 80% 以上が、尿、糞へ排泄される。投与

Table 6. Excretion (%) of ^{14}C in the urine and feces of male rats after administration of ^{14}C -DEHP

Time	Rat (days)	2.28 $\mu\text{Ci}/\text{rat}$; i.v.				1.36 $\mu\text{Ci}/\text{rat}$; p.o.			
		Urine	A Feces	Urine	B Feces	Urine	C Feces	Urine	D Feces
	1	37.7	} 6.2	28.6	} 12.7	22.7	—	44.1	0.3
	2	12.4		9.3		14.3	22.7	4.4	9.5
	3	2.6	10.8	4.0	21.5	1.7	6.9	0.5	5.3
	4	} 1.3	} 0.7	} 0.02	} 1.5	1.1	0.9	0.1	11.3
	5					0.3	0.2	0.1	6.0
	6	} 0.8	} 2.0	} 0.5	} 0.8			} 0.1	} 3.1
	7								
Total		54.8	19.7	42.3	36.4	40.1	30.7	49.3	35.5

Table 7. Mean radioactivity distribution in the dog* 24 hours after oral administration of ^{14}C -DEHP⁶⁾

Dose Level	Position of ^{14}C	Feces**	Urine	Carcass	GI Tract
60 mg/kg	Ring	71.50 $\pm$ 12.47	12.70 $\pm$ 5.29	12.00 $\pm$ 0.12	3.90 $\pm$ 2.54
60 mg/kg	Chain	82.90 $\pm$ 5.73	10.30 $\pm$ 3.83	5.20 $\pm$ 1.07	1.60 $\pm$ 0.90
300 mg/kg	Ring	78.00 $\pm$ 10.89	8.30 $\pm$ 5.43	8.83 $\pm$ 2.63	4.90 $\pm$ 3.09
300 mg/kg	Chain	78.10 $\pm$ 8.31	11.70 $\pm$ 6.55	7.26 $\pm$ 1.35	3.06 $\pm$ 1.10

* n=3 for each test group.

** Feces include gastrointestinal contents.

に際して使用する溶剤の性質がその吸収、分布、排泄にかなりの影響を及ぼすことを常に考慮しなければならない。

我々は経口投与の場合は Tween 80 を溶剤とし、静脈内投与の際はウシ血清アルブミンを乳化剤として用いた。

Table 6 に ^{14}C -DEHP 投与後のラットによる放射活性の排泄を示した。

呼吸中にはほとんど放射活性はみとめられず、DEHP のカルボキシル基の脱炭酸は *in vivo* ではおこらないものと考えられる。

ラットでは芳香環に ^{14}C -ラベルしても、側鎖にラベルしてもその排泄に顕著な差はない⁶⁾。

イスでは約 90% が24時間後に排泄されるが、ラットにくらべて糞中の排泄がより大きいことが特徴と云えよう⁶⁾。Table 7 にイスの実験結果を示した。

これらの動物による吸収、排泄の実験結果から

DEHP は投与法にあまり関係なく、比較的早く吸収されると同時に急速に代謝されて体外に排泄されることが分る。

^{14}C -DEHP の長期に亙る経口投与では定常状態に達して、DEHP あるいはその代謝物が各臓器に蓄積するが、DEHP を含まない飼料に戻すと、肝では 1~2 日、腹部脂肪では4~7日の半減期で ^{14}C の活性は消失していく⁷⁾。

この事実は PCB などに比して経時的な蓄積、濃縮は低いといえよう。

マウスでは腹腔内に投与した DEHP の 83% が14 日間で尿中に排泄され、35日後ではほとんどその排泄をみない⁸⁾。喜田村らはオリーブ油溶液として腹腔内に投与したときの DEHP の生物学的半減期はマウスでは約12日であると報告している⁹⁾。

DEHP は微生物によりかなり早く分解され、初濃度 9.3 ppm のものは1週間で、その 96% が分解し

Table 8. Distribution (%) of radioactivity and R.S.A. in rats after the intravenous administration of ^{14}C -DEHP (1.03 μCi)

Time (hours)	1	2	3	6	12	24	7 days
Organs							
Brain	0.02 $\pm$ 0.00 (0.020)	0.02 $\pm$ 0.01 (0.026)	0.02 $\pm$ 0.01 (0.031)	0.02 $\pm$ 0.00 (0.028)	0.03 $\pm$ 0.01 (0.034)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.012)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.006)
Heart	0.19 $\pm$ 0.04 (0.54)	0.17 $\pm$ 0.02 (0.45)	0.13 $\pm$ 0.01 (0.38)	0.13 $\pm$ 0.03 (0.33)	0.06 $\pm$ 0.00 (0.18)	0.02 $\pm$ 0.01 (0.06)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.015)
Lung	0.80 $\pm$ 0.07 (1.32)	0.57 $\pm$ 0.09 (0.76)	0.37 $\pm$ 0.08 (0.64)	0.32 $\pm$ 0.04 (0.47)	0.11 $\pm$ 0.06 (0.23)	0.04 $\pm$ 0.02 (0.07)	0.03 $\pm$ 0.01 (0.045)
Liver	76.16 $\pm$ 3.73 (14.81)	61.28 $\pm$ 9.26 (12.39)	51.17 $\pm$ 2.19 (10.39)	34.12 $\pm$ 0.73 (7.25)	25.06 $\pm$ 17.08 (5.59)	5.60 $\pm$ 5.29 (1.53)	0.17 $\pm$ 0.04 (0.04)
Spleen	3.02 $\pm$ 0.91 (5.70)	1.13 $\pm$ 0.09 (2.08)	0.44 $\pm$ 0.15 (0.63)	0.21 $\pm$ 0.01 (0.40)	1.12 $\pm$ 0.66 (3.81)	0.08 $\pm$ 0.11 (0.40)	0.11 $\pm$ 0.00 (0.015)
Kidney	0.71 $\pm$ 0.07 (0.83)	0.43 $\pm$ 0.09 (0.48)	0.43 $\pm$ 0.11 (0.54)	0.40 $\pm$ 0.04 (0.43)	0.13 $\pm$ 0.05 (0.18)	0.09 $\pm$ 0.05 (0.12)	0.03 $\pm$ 0.00 (0.03)
Stomach	0.09 $\pm$ 0.02 (0.15)	0.09 $\pm$ 0.01 (0.16)	0.08 $\pm$ 0.01 (0.13)	0.14 $\pm$ 0.08 (0.25)	0.08 $\pm$ 0.04 (0.14)	0.04 $\pm$ 0.04 (0.07)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.015)
Intestine*1	18.23 $\pm$ 2.08 (2.17)	24.42 $\pm$ 6.22 (3.03)	30.33 $\pm$ 0.39 (3.66)	28.22 $\pm$ 3.23 (3.72)	15.84 $\pm$ 9.83 (1.74)	12.20 $\pm$ 14.57 (1.92)	0.15 $\pm$ 0.17 (0.022)
Testicle	0.04 $\pm$ 0.01 (0.035)	0.03 $\pm$ 0.00 (0.030)	0.03 $\pm$ 0.00 (0.028)	0.04 $\pm$ 0.00 (0.036)	0.03 $\pm$ 0.01 (0.026)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.011)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.005)
Blood*2	2.17 $\pm$ 1.83 (0.28)	1.27 $\pm$ 0.52 (0.16)	1.44 $\pm$ 0.36 (0.19)	1.17 $\pm$ 0.53 (0.15)	0.68 $\pm$ 0.35 (0.09)	0.65 $\pm$ 0.45 (0.08)	0.16 $\pm$ 0.03 (0.02)
Muscle*3	4.78 $\pm$ 0.41 (0.12)	5.15 $\pm$ 1.14 (0.13)	5.02 $\pm$ 0.86 (0.13)	6.20 $\pm$ 1.98 (0.15)	2.57 $\pm$ 0.67 (0.07)	2.01 $\pm$ 0.17 (0.22)	0.76 $\pm$ 0.25 (0.015)
Adipose*4	3.46 $\pm$ 1.61 (0.25)	2.88 $\pm$ 0.11 (0.20)	1.24 $\pm$ 0.90 (0.09)	1.79 $\pm$ 1.70 (0.10)	3.01 $\pm$ 1.90 (0.21)	2.54 $\pm$ 0.11 (0.18)	2.08 $\pm$ 0.11 (0.15)

The figures are the mean data $\pm$ S.D. and numbers in parentheses indicate R.S.A.

*1 Intestine contains contents

*2 Assumes 7.69% of the body weight to be blood.

*3 Assumes 40% of the body weight to be muscle.

*4 Assumes 14% of the body weight to be adipose.

$$\text{R.S.A.} = \frac{\text{activity in the organ (dpm)}}{\text{organ weight (g)}} \\ = \frac{\text{total dose (dpm)}}{\text{body weight (g)}}$$

Table 9. Distribution (%) of radioactivity and R.S.A. in rats after the oral administration of ^{14}C -DEHP (1.41 μCi)

Time (hours)	1	2	3	6	12	24
Organs						
Brain	0.01 $\pm$ 0.00 (0.01)	0.02 $\pm$ 0.01 (0.025)	0.03 $\pm$ 0.01 (0.036)	0.02 $\pm$ 0.01 (0.018)	0.01 $\pm$ 0.01 (0.005)	0.00 (0.0003)
Heart	0.04 $\pm$ 0.01 (0.096)	0.06 $\pm$ 0.04 (0.14)	0.14 $\pm$ 0.05 (0.19)	0.10 $\pm$ 0.02 (0.27)	0.04 $\pm$ 0.02 (0.11)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.03)
Lung	0.05 $\pm$ 0.02 (0.10)	0.17 $\pm$ 0.07 (0.32)	0.21 $\pm$ 0.09 (0.28)	0.13 $\pm$ 0.01 (0.23)	0.07 $\pm$ 0.06 (0.13)	0.01 $\pm$ 0.01 (0.02)
Liver	1.52 $\pm$ 0.26 (0.43)	1.70 $\pm$ 0.65 (0.44)	2.75 $\pm$ 0.41 (0.69)	2.62 $\pm$ 0.12 (0.66)	1.48 $\pm$ 0.39 (0.36)	0.74 $\pm$ 0.13 (0.18)
Spleen	0.06 $\pm$ 0.02 (0.07)	0.06 $\pm$ 0.03 (0.12)	0.17 $\pm$ 0.12 (0.24)	0.06 $\pm$ 0.02 (0.13)	0.03 $\pm$ 0.01 (0.03)	0.00 (0.006)
Kidney	0.36 $\pm$ 0.14 (0.42)	0.34 $\pm$ 0.04 (0.36)	0.44 $\pm$ 0.21 (0.48)	0.51 $\pm$ 0.14 (0.61)	0.23 $\pm$ 0.07 (0.32)	0.09 $\pm$ 0.03 (0.09)
Stomach	32.15 $\pm$ 14.14 (33.1)	15.84 $\pm$ 8.45 (17.3)	7.97 $\pm$ 5.17 (8.08)	3.83 $\pm$ 1.09 (5.28)	1.00 $\pm$ 0.58 (1.39)	0.20 $\pm$ 0.22 (0.29)
Intestine	13.3* (3.68*)	35.62 $\pm$ 29.88 (5.50)	51.06 $\pm$ 20.78 (6.54)	26.94 $\pm$ 6.02 (3.57)	39.66 $\pm$ 13.70 (5.70)	34.57* (6.87)*
Testicle	0.03 $\pm$ 0.01 (0.02)	0.05 $\pm$ 0.01 (0.05)	0.13 $\pm$ 0.04 (0.09)	0.11 $\pm$ 0.05 (0.09)	0.04 $\pm$ 0.02 (0.03)	0.01 $\pm$ 0.00 (0.006)
Blood	0.49 $\pm$ 0.30 (0.06)	0.54 $\pm$ 0.41 (0.07)	0.74 $\pm$ 0.34 (0.10)	0.88 $\pm$ 0.39 (0.11)	0.44 $\pm$ 0.27 (0.06)	0.23 $\pm$ 0.16 (0.03)
Muscle	3.16 $\pm$ 1.39 (0.08)	4.15 $\pm$ 2.53 (0.10)	4.86 $\pm$ 1.93 (0.12)	4.37 $\pm$ 1.61 (0.11)	1.46 $\pm$ 0.71 (0.04)	0.32 $\pm$ 0.14 (0.008)
Adipose	5.93 $\pm$ 1.24 (0.42)	1.40 $\pm$ 0.62 (0.10)	1.18 $\pm$ 0.23 (0.08)	1.33 $\pm$ 0.48 (0.11)	1.72 $\pm$ 0.36 (0.05)	0.27 $\pm$ 0.09 (0.02)

* one sample only

The figures are the mean data $\pm$ S.D. and numbers in parentheses indicate R.S.A.てしまうといわれている¹⁰⁾.

7-2. 体内分布

我々は体重 150~250 g のウィスター系雄ラットを使って、経時的に組織分布をしらべた結果を、静脈内投与の場合を Table 8 に、経口投与の場合を Table 9 に示す。

また臓器親和性を検討するための相対比放射能値 (RSA) をカッコ内に記した。

この表から明らかなように、静脈内投与の際は約 70~80% の放射活性は 1 時間後の肝に集るが、3 時間後には約 50% までに減少し、7 日後にはわずかに 0.17% の放射活性が残存するにすぎない。

DEHP 投与の初期に肝の放射活性が時間の経過と共に減少すると、それに伴って腸内の放射活性が増大する現象は、胆汁を通して腸管への流入によるものであることが胆管挿入の実験で証明された⁵⁾。

Schulz, Rubin ら⁴⁾ は 200 mg/kg を血管内に投与すると血中濃度は二相性を示して減少し、第 1 半減

期 9 分、第 2 半減期は 22 分であるが、0.1 mg/kg の場合、第 2 半減期は変わらず第 1 半減期のみが 4.5 分であることを報告している。

脂肪組織は Table 8 から分るように 7 日後でも最高の RSA と分布率を示し、他の臓器にくらべて、その排泄がおそいことが分った。Williams と Blanchfield¹¹⁾ も経口投与後 8 日で放射活性の認められたのは脂肪組織のみであると述べている。脂肪中には未変化の DEHP が集積していることも明らかにされている⁷⁾。静脈内投与の場合、脾が 12 時間後に比較的高い値を示しているが、その理由は不明である⁵⁾。一方経口投与の場合、胃腸管を別にすれば肝、腎がかなり高い放射活性を示し、血中濃度は 6 時間後に最高に達する。睾丸と脳は投与法に拘らず最も親和性の乏しい臓器といえるであろう。この事実は Daniel の実験結果⁷⁾ともよく一致している。

静脈内投与の際、分布に最も大きな影響を及ぼす因子として、DEHP の粒子の大きさが重要である。乳

化剤をうまく選択すれば、真の体内分布の成績が得られるが、さもないと肺や脾のような毛細血管の発達した臓器に一時的に沈着をおこし良好な結果がえられないことがある。この点は実験をおこなう際に留意すべき重要な条件である。

我々は Rubin らの方法⁴⁾に従って DEHP を 4% ウシ血清アルブミンに加え超音波処理することにより 1 ミクロン以下の微粉子として血管内に投与した。

また Tween 80, エタノールなどを併用して、静注している研究グループも散見される⁶⁾。

DEHP はラットでは 200 mg/kg の血管内投与で肝の吸収が飽和されてしまうといわれているが、我々は 500 mg/kg の経口投与を 20 日間続けた後、1 回の投与実験では尿中に認められなかった DEHP を証明した。この事実は DEHP がラット体内で、すでに定常状態になり、余分の DEHP が体外へ排泄されたものと考えられる。

オートラジオグラムはラットの血清と DEHP をよ

く乳化させて投与すると ^{14}C の活性は肝や腸に主として集るが、乳化剤を使用しないで DEHP を直接投与すると肺や脾にその放射活性が集まり、我々の体内分布の結果をよく支持する知見がえられた¹²⁾。

マウスの静脈内投与では肺によく集積するが、脳にはほとんど DEHP は検出されない⁸⁾。

ウサギの皮膚吸収をオートラジオグラムで追跡したところ、3 日後では肺、肝、腎、脾、性腺に放射活性が認められたという報告もある⁸⁾。

7-3. 代謝

DEHP の *in vivo* での代謝は Albro ら¹³⁾ が CD ラットを使って、経口投与後の尿中代謝物の検索をおこなっている。かれらはガスマスおよびコンピューターを用いて代謝物の分離と分子量の測定をおこない、さらに赤外吸収スペクトル、核磁気共鳴などを駆使して、化合物の構造を決定した。

Fig. 3 にその代謝経路を示す。

DEHP は加水分解をうけて、モノエステル [I] (MEHP) になり、つぎに ω 酸化あるいは ω -1 酸化をうけてアルコール体 [II] または [III] を生成し、さらに対応するケトン体 [V] やカルボン酸 [IV] になり、これらのものは酸化されて炭素のより短い酸 [VI] となる。

尿中に確認された代謝物は [III] [IV] [V] [VI] [VII] の 5 種で尿中排泄率は Fig. 3 のカッコ内の数字で示してある。

研究者により数種から 14 種類の尿中代謝物の存在が示唆されている。Daniel と Blatt は [IV] の構造について [VII] の可能性も推定しているが、最終的な決定はなされていない⁷⁾。

我々の実験では尿中に DEHP も MEHP も検出できなかったが、糞、胆汁中の主代謝物は未変化の DEHP であることを確めた。

一方 *in vitro* での実験では、DEHP はラット各臓器のリパーゼにより加水分解され MEHP [I] になるが、中でも脾のホモジェネートはとくに活性が高いことが Albro ら¹⁴⁾ により明らかにされた。

ラットの肝、腎、肺のエステラーゼもこの加水分解に関与し、とくに肝のミクロゾーム、ミトコンドリアではこの加水分解が起こるが、サイトゾル (105,000 g の上清)

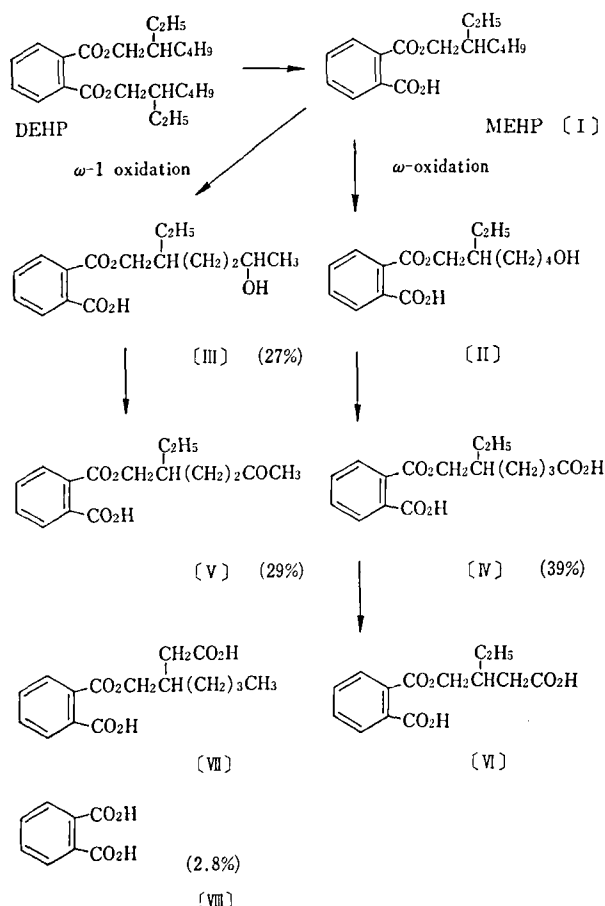


Fig. 3. Possible pathway of DEHP in rats

では起こらないとされている¹⁵⁾。

またラットの盲腸および小腸の内容物も DEHP の加水分解に関係あると考えられている。SD 系ラットでは DEHP をまぜた飼料で飼育したときと、DEHP を添加しない飼料で飼育したときとは盲腸、小腸の内容物の DEHP 分解速度は前者の方が大きいとされているが、ウィスター系ラットの盲腸および小腸内容物ではこのような現象はみられなかったと報告されている¹⁶⁾。

この DEHP から MEHP を生成する分解酵素の基源には腸粘膜に由来する細胞が重要な役割を演じていると考えられ、腸内細菌叢の寄与は比較的少ないものと想像されている¹⁶⁾。

高橋ら¹⁷⁾は DEHP はラット肝ミトコンドリアの酸化的リン酸化に *in vitro* ではほとんど影響を及ぼさないが、代謝の重要な中間体とされている MEHP ではかなり強い呼吸抑制が認められることを見出した。

一方哺乳動物以外の魚類やその他の水棲動物では、MEHP、フタル酸 [VIII]、無水フタル酸、グルクロン酸抱合体などが代謝産物として報告されている^{18,19)}。

ヒトの体内分布については Rubin, Jaeger などが報告^{20,21)}しているように輸血経験と組織内の DEHP の含量は全く無関係といって良い。

DEHP が輸血の際に血中に流入しても検出されない場合もあれば、輸血した経験がないのに多量の DEHP が腹部脂肪から検出された例もある。

人体組織中の DEHP の含量を2カ所の実験室で調査した結果を Table 10, 11 に示す⁶⁾。

同一標品でもこれらの値にはかなりの差がみとめられることが分る。

DEHP は組織内の酵素により、保存中徐々に分解していくといわれており、イヌの肺と肝では -11.5° 以下であれば DEHP は安定であるが、 3.5° では安定性に疑問が残るという見解も発表されている²²⁾。

Nair²³⁾によるとウシの心ミトコンドリア中の DEHP は市販品と異なり、光学活性で低温でヘキサン中で結晶化するという。

DEHP の存在が環境汚染に由来するとのみは考えられず、動物体内での生合成という想定もまったく否定しえない現状である。

以上 DEHP の代謝全般にわたって、哺乳動物を中心とした研究を紹介した。DEHP の動物種による代謝の異同、DEHP の心筋ミトコンドリアに局在する生物学的な意味、ヒトにおける代謝と臓器内分布との関係、さらに DEHP の生合成をも含めた生化学的な諸問題の解決など今後系統的研究により DEHP の環

境における存在意義が明らかにされるであろう。

(山羽, 田中)

8. 血液中への溶出・定量法

フタル酸エステルのマクロ分析法については L. Fishben ら¹⁾及び H. J. Hugos²⁾の総説があり、また水については片瀬ら³⁾、児玉ら⁴⁾の文献及び環境庁の方法⁵⁾があるので、ここでは医療用具に使われる PVC からの溶出あるいは血液中の DEHP の分離定量法について述べる。

PVC 製血液バッグからの溶出は1967年 W. L. Guess ら⁶⁾及び1970年 Y. L. Marcel ら⁷⁾が主に TLC 法で検出したことから始められた。R. J. Jaeger 及び R. J. Rubin⁸⁾は 4° で血液バッグ中に21日間保存した血液を凍結乾燥し、クロロホルム・メタノール混液(2:1)を用いて抽出し、GC により分析を行ない、 $0.25\text{ mg}/100\text{ ml/day}$ の割合で溶出すること並びにこの血液を血漿と赤血球とに分離すると赤血球部分には全血液中に含まれる DEHP の約 $1/10$ しか含まれないことを報告している。

著者ら^{9,10)}は PVC の水に対する溶出量を各種条件で調べたが、国産の PVC 製血液バッグ中の ACD 液など血液凝固防止液をヘキサンで抽出し、GC (5% SE30, FID) で定量したところ、約 0.2 ppm であり、これらは高圧蒸気滅菌処理をなされているにもかかわらず微量であった。つぎに乾燥人血漿液 100 ml を血液セット中に入れ、 $5\pm 1^{\circ}$ で1, 2, 3週目にその 10 ml をとり出し、これにクロロホルム・メタノール混液(2:1) 30 ml を加え、30分間振とうし 3000 rpm で10分間遠心分離を行ない、これをクロロホルム・メタノール層、たん白質塊、水層の三層に分離し、たん白質塊および水層にそれぞれクロロホルム・メタノール混液 15 ml を加え、10分間振とうし、ついで 3000 rpm で10分間遠心分離する。それぞれを2層に分離させたのち、たん白質塊についてはさらに1回、水層についてはさらに2回同様の操作をくりかえし、えられたクロロホルム・メタノール層は最初のクロロホルム・メタノール抽出液と合し、水浴上でクロロホルム及びメタノールをほぼ完全に減圧留去し、ついで内部標準として $\text{DnOP } 300\text{ }\mu\text{g/ml}$ の *n*-ヘキサン溶液 $1\sim 4\text{ ml}$ を DEHP の濃度に応じて正確に加えて GC の試料溶液とした。予め面積比法により作製した検量線を用いて定量した結果、血漿液 100 ml につき1週間目で 0.8 mg 、2週間目で 1.7 mg 、3週間目で 2.7 mg であった。笹川¹¹⁾も21日間 5° で血液バッグに保存した血液中に $3.5\sim 5.3\text{ mg}/100\text{ ml}$ の DEHP を定量して

Table 10. DEHP tissue analyses (ppm) Lab. 1

Patient Age	Trans. History	No. Units Last Admin.	Abd. Fat	Axill. Fat	Blood	Brain	Heart	Kidney	Liver	Lung	Omen. Fat	Spleen
01*	None	—	<1	<1	—	—	—	5.35	5.83	17.40	<1	4.02
52	None	—	<1	<1	3.33	<1	7.36	3.98	4.39	4.71	<1	2.03
53	None	—	<1	<1	—	—	4.54	5.61	2.19	2.25	<1	3.62
58	None	—	3.79	8.98	—	2.73	0.83	<1	1.83	<1	—	—
64*	None	—	<1	—	—	—	—	6.09	6.37	—	4.10	3.02
78	None	—	<1	<1	5.60	2.11	2.06	2.33	8.25	13.30	<1	8.05
05*	++	7	—	<1	—	—	<1	<1	2.10	<1	2.84	1.21
39	++	4	<1	<1	3.10	<1	9.82	4.11	<1	3.68	20.10	4.46
73	++	10	<1	<1	5.71	<1	<1	7.84	15.00	5.20	<1	21.50
28	+0	4	<1	<1	6.81	6.80	9.71	6.15	5.90	3.88	<1	<1
40	+0	2	<1	<1	—	—	1.54	—	<1	<1	—	<1
44	+0	9	<1	<1	1.06	—	1.75	—	7.30	<1	—	1.05
56	+0	3	<1	5.92	—	—	3.71	—	12.98	2.49	—	8.18
79	+0	16	<1	<1	1.00	<1	8.12	4.26	3.26	2.85	<1	6.21
64	++	3	5.66	13.94	4.30	<1	3.11	4.03	3.11	4.32	<1	5.89
66	None	—	<1	<1	4.76	—	4.10	5.07	—	—	6.34	4.47
43	None	—	7.04	<1	3.90	—	2.71	3.65	2.60	5.06	5.80	2.87
81	None	—	<1	<1	1.62	2.83	3.90	2.96	3.79	4.32	<1	4.10

Legend ++ transfused in the past and on last admission
+0 transfused last admission only
— no sample analyzed
* tissues analyzed by both laboratories

Table 11. DEHP tissue analyses (ppm) Lab. 2

Patient Age	Trans. History	No. Units Last Admin.	Abd. Fat	Axill. Fat	Blood	Brain	Heart	Kidney	Liver	Lung	Omen. Fat	Spleen
01*	None	—	9.0	ND	—	—	—	ND	ND	ND	13.4	ND
39	None	—	ND	ND	ND	ND	—	ND	ND	ND	2.6	ND
56	None	—	ND	ND	ND	ND	ND	4.6	5.0	1.4	—	ND
59	None	—	ND	ND	4.0	—	ND	ND	—	ND	1.4	—
64*	None	—	163.5	181.8	3.2	8.7	ND	ND	ND	33.5	65.3	5.2
65	None	—	1.8	5.4	3.4	—	—	9.4	11.6	15.8	2.4	8.2
83	None	—	0.6	ND	—	ND	—	—	1.4	ND	ND	2.8
83	None	—	—	ND	0.4	ND	ND	2.4	ND	0.6	ND	ND
46	++	3	2.6	6.4	3.2	ND	35.8	3.8	ND	4.0	ND	ND
05*	++	7	1.2	—	—	—	0.4	ND	0.8	4.4	1.8	5.0

ND Not detectable (less than 0.5 to 3.0 ppm)
++ Transfused in the past and on last admission
— No sample analyzed
* Tissues analyzed by both laboratories

いる。さらに著者ら¹²⁾は市販の長さ 6.4 m の人工腎臓用血液回路に乾燥人血漿液 300 ml を 37° の恒温器中で 240 ml/min. の流速で 8 時間連続循環させた。このときに血漿液を 1, 2, 4, 6 時間毎に 10 ml 採取し、これを前記と同様にして定量したところ、最初の 1 時間で約 2.5 mg、以後ほぼ直線的に増加し、6 時間目では約 20 mg の DEHP が溶出することが認められた。この定量法の回収率は 96% であり、勿論使用した器具、試薬を含めて空試験で DEHP は検出されないことを確認している。

このような DEHP の溶出現象は、水、ACD 溶液などに対しては溶解度がきわめて低いが、血小板を含む血漿に抽出されることは、C.R. Valeri ら¹³⁾も認めており、R.J. Rubin¹⁴⁾は血小板中のリボプロテインと DEHP とが親和性が高いことを、また笹川¹⁵⁾も血清中の β -グロブリンとの結合を示唆している。

人体組織内の DFHP 含量と輸血経験との関連については、P.P. Nair は輸血経験のない 74 死体中 54 に、R.J. Rubin は 66 死体中 33 に、それぞれ DEHP の存在を報告している¹⁶⁾。

このほか GC 法による血液あるいは生体組織中の DEHP の分析例は、D.J. Nazir ら¹⁷⁾、小儀ら¹⁸⁾、D.B. Roll ら¹⁹⁾などがある。

人血液中のフタル酸エステルの定量法は 1 ppm 以下の超微量分析であるため、常に回収率と操作中の汚染を考慮し、ブランク値をチェックすることが重要であり、大阪府立衛研では E.C.D. 付き GC による定量法で、DEHP の定量限界を 50 ppb としている。

J. Neegaard ら²⁰⁾は血液透析患者の肝炎の原因がジエチルフタレートであり、これを含め PVC チューブに変えたら肝炎がなくなったことを報告している。小野ら²¹⁾は人工腎臓使用の透析患者の血中のフタル酸エステルの量を GC で調べたところ、透析前に検出されなかった DEHP が透析 3 時間目に最高 390 ppb に上昇し、透析終了時にはまた開始時と大差ない濃度にもどり、次の透析までに血中には検出されないことを報告している。この定量法は血液試料 10 ml を冷凍し、エタノールを加え静置後、えられる上澄のエタノール層にヘキサン 5 ml と水を加え攪拌後ヘキサン層を分離し ECD 付き GC に注入している。

また D.B. Roll ら¹⁹⁾は犬の血漿中に DEHP を超音波乳化し、これを犬に 25 mg/kg 静注し、6 時間後の肝と肺の DEHP を定量しているが、その方法はわれわれと同じ抽出及び内部標準による GC 法である。そして検出限界は 1 mg% であり、ピーク比法よりも面積比法ははるかに精度がよいことを述べている。

9. 結 語

当所において過去 3 年間、PVC 製医療用器具の安全性という立場から DEHP を主体としたフタル酸エステルについて薬品部ほか 3 部が厚生省の医療助成研究費などにより協同研究を行なってきたが、その成果をもととして国内外の文献をも含めて DEHP を主とするフタル酸エステルの性状、用途、急性・亜急性・慢性毒性、癌原性、催奇形性、細胞毒性、血液に及ぼす影響、一般薬理作用、代謝、血液中への溶出、定量法についての総説を試みた。

現在、フタル酸エステルの人体に及ぼす影響が問題になっているが、これには PVC 製血液バッグあるいは血液回路等の医療用具から溶出するものの影響および環境汚染による影響の両面があるが、本総説は PVC 製医療用器具の可塑剤フタル酸エステルの安全性を主題とするものであり、フタル酸エステルによる環境汚染に対する医療用器具の影響度は少ないと考えられるので、ここでは環境汚染の問題は論じていない。

現在国内で PVC 製医療用器具にはフタル酸エステルの中でも DEHP のみが使用されているが、DEHP は静脈を通じて人体に取り込まれるので、動物における実験的研究のうち静脈内投与によるものが人体における影響を推定するに最も有用であることは論をまたない。本総説において静脈内投与による実験を通覧するとき研究者によって結果に大幅な差異がみられたものがある。このような差異の原因には諸種の要因を考えねばならないが最も主なもの DEHP 投与時の粒子の大きさであると考えられる。このことは同一研究者においても粒子の大きさによって生体反応に大きな差をみている事実から支持される。

PVC 製医療用器具から溶出する DEHP の粒子はきわめて小さくほぼ溶解状態と考えられるので、本総説における諸実験において粒子を小さくして投与した実験の結果が人での影響を推定するのに最も適切であろう。このことを基盤とし、PVC 製医療用器具からの溶出量と上記実験結果を勘案するとき DEHP が有害であるとする証拠は現在のところないと考えられる。しかしながら本総説で述べた薬理・毒性学的研究は主として 1 回の静脈注射によるものでありその結果は血液バッグ等の場合に応用しうるが、人工腎臓のように長期間血液透析が行なわれる場合の血液回路よりの DEHP の影響を知るには充分ではない。

投与経路を異にするが、現在まで得られている範囲の研究では、癌原性、*in vitro* および *in vivo* におけ

る染色体異常誘発能、微生物における変異原性はいずれも陰性であるが、優生致死試験では陽性との報告もある。催奇形性については、腹腔内投与で 10 ml/kg で奇形発生がみられたが 5 ml/kg では陰性であった²²⁾。

人での知見については、わが国では PVC 製医療用器具から溶出した DEHP による事故の報告はない。しかしながら 6-2 で述べた新生児の壊疽性腸炎と DEHP との関連性についての Hillman²³⁾ の報告は、その因果関係の確度は不明であるが、周産期での医療では留意すべきものかもしれない。

DEHP を可塑剤とする PVC が医療用器具として世界各国で使用されていることは、軟質 PVC はすぐれた物性をもっているとともに、まだ代るべきプラスチックがないことを示すものであり、DEHP が使用される限り今後もその安全性に関する研究は続けられるであろう。それとともに毒性の有無にかかわらず体内に異物が入ることは好ましくないので、できるだけ溶出量を減少せしめる改良あるいは新材質の開発に関する研究²⁴⁾も行なわれなければならない。

文 献

1. 緒言

- 1) R.J. Jaeger, R.J. Rubin: *Science*, **170**, 460 (1970)
- 2) Washington Post, 18, Jan. 1972 [水町彰吾訳, 国立衛生試験所調査月報, 第5巻, 第7号 (1972)]
- 3) 大場琢磨: “フタル酸エステルと医療用具”, 月刊薬事, **14**, 107 (1972)
- 4) 大場琢磨: “フタル酸エステルの問題点”医薬品研究, **3**, 449 (1972)
- 5) J. Autian: “Toxicity and Health Threats of Phthalate Esters: Review of the Literature”, *Environmental Health Perspectives*, **4**, 3 (1973); [海外技術資料研究所訳編, “可塑剤フタル酸エステル・毒性と人体への影響分析” (1974)]
- 6) 下村国夫: “フタル酸エステルの衛生性”, 塩ビ食品衛生協議会会報, No. 28, 1 (1974)
- 7) 塩ビ食品衛生協議会編, プラスチック添加剤の衛生性, 第3集 (1974) (幸書房)
- 8) A Subcommittee of the Medical Research Council's Blood Transfusion Research Committee: *Lancet*, 595 (1957)

2. 急性・亜急性・慢性毒性

- 1) H.C. Hodge: *Proc. Soc. Exp. Med.*, **53**, 20 (1943)
- 2) C.B. Shaffer et al.: *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **27**, 130 (1945)
- 3) *Industrial hygiene and Toxicology*, Vol. II, p. 1906, Interscience, New York (1967)

- 4) D. Calley et al.: *J. Pharm. Sci.*, **55**, (2), 158 (1966)
- 5) A.R. Singh et al.: *J. Pharm. Sci.*, **61**, (1), 51 (1972)
- 6) R.M. Gesler et al.: *Lancet*, **1**, 1227 (1970)
- 7) 宮原智江子ら: 神奈川衛研報告, No. 3, 19 (1973)
- 8) 山田明男: 食衛誌, **15**, (3), 147 (1974)
- 9) 大場琢磨ら: 厚生省環境衛生局へ報告 (1975)
- 10) R.V. Petersen: *Contract NHLI-73-2908B* (PB-233 701) p. 15 (1974)
- 11) 宮原智江子ら: 日本薬学会第94年会講演要旨集 III, p. 224 (1974)
- 12) 大場琢磨ら: 医療助成金研究として厚生省に報告 (1975)
- 13) R.J. Rubin et al.: *Toxic. Appl. Pharmacol.*, **29**, 143 (1974)
- 14) R.S. Harris et al.: *A.M.A. Arch. Ind. Health*, **13**, 259 (1956)
- 15) M. Nikonorow et al.: *Toxic. Appl. Pharmacol.*, **26**, 253 (1973)
- 16) 山田明男ら: 日本食品衛生学会回学術講演要旨集, p. 36 (1973)
- 17) 太田秀夫ら: 日病理誌, **62**, 119 (1973)
- 18) 山田直樹ら: 日本衛生学雑誌, **29**, (1), 178 (1974)
- 19) C.P. Carpenter et al.: *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, **8**, 219 (1953)
- 20) R.M. Gesler: *Environ. Health Perspec.*, **3**, 73 (1973)

3. 癌原性

- 1) J.H. Draize et al.: *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, **93**, 26 (1948)
- 2) H.B. Haag et al.: *Indust. Med.*, **17**, 477 (1948)
- 3) H.B. Haag et al.: *Arch. Internat. Pharmacodyn.*, **83**, 491 (1950)
- 4) C.P. Carpenter et al.: *A.M.A. Arch. Indust. Hyg.*, **8**, 219, 377 (1953)
- 5) R.S. Harris et al.: *Arch. Industr. Health*, **13**, 259 (1956)
- 6) H.C. Hodge et al.: *J. Pharmacol. & Exp. Ther.*, **118**, 174 (1956)
- 7) C.C. Smith: *A.M.A. Arch. Indust. Hyg.*, **7**, 310 (1953)
- 8) F.S. Mallette, E. von Hamm: *A.M.A. Arch. Indust. Hyg.*, **6**, 231 (1952)

4. 催奇性

- 1) R.K. Bower et al.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **171**, 314 (1970)
- 2) J.W. Peters, R.M. Cook: *Environmental Health Perspectives*, **3**, 91 (1973) [塩ビ食品衛生協議会訳, 同技術参考資料, No. 58 (1973)]
- 3) A.R. Singh et al.: *J. Pharm. Sci.*, **61**, 51 (1972)
- 4) M. Nikonorow et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **26**, 253 (1973)

- 5) 中山信正ら: 日公衛誌, 15, 377 (1968)
- 6) 塩ビ食品協議会編: プラスチック添加剤の衛生性, 第3集, p. 12 (1974) (幸書房)
- 7) 恩田祐行ら: 日衛誌, 29, 177 (1974)
5. 細胞毒性
 - 1) W.L. Guess et al.: *J. Pharm. Sci.*, 54, 1545 (1965)
 - 2) D. Calley et al.: *J. Pharm. Sci.*, 55, 158 (1966)
 - 3) J. Nematollahi et al.: *J. Pharm. Sci.*, 56, 1446 (1967)
 - 4) 宮原智江子ら: 神奈川県衛生研究所, 研究報告 No. 3, 19 (1973)
 - 5) W.L. Guess, S. Haberman: *J. Biomed. Mater. Res.*, 2, 313 (1968)
 - 6) E.O. Dillingham, J. Autian: *Environ. Health Perspec.*, 3, 81 (1972)
 - 7) S.V. Kery: Contract NHLI-72-2969, PB233 857, p. 32 (1974)
 - 8) 米田孟弘ら: 食品衛生学雑誌, 15, 451 (1974)
 - 9) R.V. Petersen: Contract NHLI-73-2908B, PB233 701, p. 69 (1974)
 - 10) 田島弥太郎ら: 化学物質の突然変異性検出法, p. 188 (1973) (講談社サイエンティフィック)
 - 11) Evaluation and Testing of Drugs for Mutagenicity: Principles and Problems, WHO Technical Report Series, No. 482, Geneva (1971)
 - 12) 石館基: 国立衛試, 調査月報, 8, No. 4 (1975)
 - 13) 石館基, 畑中みどり: 日本組織培養学会, 第39回研究会 (1975)
 - 14) D.W. Ribbons, W.C. Evans: *Biochem. J.*, 76, 310 (1960)
 - 15) 矢野圭司, 金光秀晃: 日本農芸化学会昭和49年度大会講演要旨集, p. 208 (1974)
 - 16) 倉田浩, 吉川邦衛: 昭和49年度食品衛生調査研究報告書
 - 17) A.R. Singh et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 29, 35 (1974)
6. 血液に及ぼす影響・薬理作用
 - 1) R.P.C. Handfield-Jones, H.B.M. Lewis: *Lancet*, 22, 585 (1952)
 - 2) P.L. Mollison et al.: *Lancet*, 23, 595 (1957)
 - 3) R.J. Jaeger, R.J. Rubin: *Science*, 170, 460 (1970)
 - 4) R.L. Wall et al.: *J. Lab. Clin. Med.*, 42, 674 (1953)
 - 5) M.M. Strumia et al.: *J. Lab. Clin. Med.*, 46, 225 (1955)
 - 6) A. Ozge et al.: *J. Lab. Clin. Med.*, 63, 378 (1964)
 - 7) B. Braun, H.J. Kummel: *Deutsche Apotheker-Zeitung*, 103, 467 (1963), [海外技術資料研究所訳編: “フルク酸エステル毒性と人体への影響”, p. 25 (1974)]
 - 8) C.W. Walter: *Environ. Health Persp.*, 3, (1973) [塩ビ食品衛生協議会訳, 技術参考資料, No. 58 (1973)]
 - 9) C.R. Valeri et al.: *ibid.*, [同上]
 - 10) 笹川滋ら: 日本輸血学会誌, 21, 8 (1974)
 - 11) 宮原智江子ら: 神奈川衛研報, 3, 19 (1973)
 - 12) F.S. Mallette et al.: *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 6, 231 (1952)
 - 13) R.L. Jaeger: *Environ. Health Persp.*, 3, (1973) [塩ビ食品衛生協議会訳, 技術参考資料, No. 58 (1973)]
 - 14) 中浦慎介ら: 衛生試報, 92, 17 (1974)
 - 15) 中浦慎介ら: 同上, 90, 43 (1972)
 - 16) 中浦慎介ら: 同上, 92, 23 (1974)
 - 17) 小野慶治ら: 日本医事新報, 2642, 24 (1974)
 - 18) W.L. Guess, J. Autian: *Acta. Pharm. Suecica*, 2, 273 (1965)
 - 19) D. Calley, J. Autian, W.L. Guess: *J. Pharm. Sci.*, 55, 158 (1966)
 - 20) J.W. Daniel, H. Bratt: *Toxicology*, 2, 51 (1974)
 - 21) W.H. Lawrence et al.: *J. Pharm. Sci.*, 52, 958 (1963)
 - 22) J.H. Brower, H.H. Bryant: *J. Pharm. Sci.*, 49, 652 (1960)
 - 23) F.L. Meyer et al.: *Circulation Res.*, 8, 44 (1960)
 - 24) 大森義仁ら: 昭和43年度厚生科学研究報告, “医薬品用樹脂容器の滅菌法に関する研究”, p. 86 (1969)
 - 25) 大森義仁ら: 昭和44年度同上(続), p. 99 (1970)
 - 26) L.S. Hillman et al.: *New Eng. J. Med.*, 292, 381 (1975)
 - 27) R.V. Petersen: Contract NHLI-73-2908B P.B. 233701, p. 56 (1974)
 - 28) R.J. Rubin, C.O. Schulz: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 29, 143 (1974)
7. 代謝
 - 1) C.B. Shaffer, C.P. Carpenter, H.F. Smyth Jr.: *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, 27, 130 (1945)
 - 2) R.J. Jaeger, R.J. Rubin: *Science*, 170, 460 (1970)
 - 3) D.J. Nazir et al.: *Biochemistry*, 23, 4228 (1971)
 - 4) C.O. Schulz, R.J. Rubin: *Environ. Health. Perspect. Exp. Issue*, No. 3, 123 (1973)
 - 5) A. Tanaka, T. Adachi, T. Takahashi, T. Yamaha: *Toxicology*, 4, 253 (1975)
 - 6) R.W. Wallin et al.: *Bull. Parent. Drug Assoc.*, 28, 278 (1974)
 - 7) J.W. Daniel, H. Bratt: *Toxicology*, 2, 51 (1974)
 - 8) E.O. Dillingham, J. Autian: *Environ. Health. Perspect. Exp. Issue*, No. 3, 81 (1973)
 - 9) 喜田村正次ら: 公衆衛生学会講演要旨, p. 403 (広島, 1973)
 - 10) 塩ビ食品衛生協議会編: プラスチック添加剤の

- 衛生性, 3, p.43 (幸書房, 1974)
- 11) D.T. Williams, B.J. Blanchfield: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 11, 371 (1974)
 - 12) 未発表結果
 - 13) P.W. Albro, R.O. Thomas, L. Fishbein: *J. Chromatog.*, 76, 321 (1973)
 - 14) P.W. Albro, R.O. Thomas: *Biochem. Biophys. Acta*, 306, 380 (1973)
 - 15) J.E. Carter, D.B. Roll, R.V. Petersen: *Drug Metabolism. Dispos.*, 2, 341 (1974)
 - 16) I.R. Rowland: *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 12, 293 (1974)
 - 17) 高橋昭江, 田中彰, 山羽力: 薬学会第94年会講演要旨集 (生化学) p.40 (仙台, 1974)
 - 18) D.L. Stalling, J.W. Hogan, J.L. Johnson: *Environ. Health. Perspect. Exp. Issue*, No. 3, 159 (1973)
 - 19) R.L. Metcalf et al.: *ibid.*, *Exp. Issue*, No. 4, 27 (1973)
 - 20) R.J. Jaeger, R.J. Rubin: *New Eng. J. Med.*, 287, 1114 (1972)
 - 21) R.J. Rubin, P.P. Nair: *ibid.*, 288, 915 (1973)
 - 22) PB report 233 701 の要約: 田中彰: 国立衛試調査月報 8 (3), 1 (1975)
 - 23) P.P. Nair: *Chem. Eng. News*, Nov. 8, 7 (1971)
8. 血液中への溶出・定量法, 結語
- 1) L. Fishbein, P.W. Albro: *J. Chromato.*, 70, 364 (1972)
 - 2) H.J. Hugos: *FDA By-Line*, 3, 127 (1972)
 - 3) 片瀬隆雄, 半谷高久: 工業用水, 173, 23 (1973)
 - 4) 兄玉剛則, 高井義治: 分析機器, 13, 275 (1975)
 - 5) 環境庁企画調整局環境保健部保健調査室: 昭和49年度化学物質環境調査分析方法
 - 6) W.L. Guess, J. Jacob, J. Autian: *Drug Intelligence*, 1, 120 (1967)
 - 7) Y.L. Marcel, S.P. Noel: *Lancet*, 35 (1970)
 - 8) R.J. Jaeger, R.J. Rubin: *New Eng. J. Med.*, 287, 1114 (1972)
 - 9) 大場琢磨, 伊東宏, 水町彰吾: 衛生試験, 91, 1 (1973)
 - 10) 大場琢磨, 伊東宏, 水町彰吾: 同上, 92, 9 (1974)
 - 11) 笹川滋: 厚生省昭和48年度医療助成研究報告
 - 12) 大場琢磨, 辻楠雄, 水町彰吾: 第13回人工臓器学会講演 (1975年9月), 厚生省昭和49年度医療助成研究報告
 - 13) C.R. Valeri et al.: *Environmental Health Perspectives, Expt. Issue*, No. 3, 103 (1973)
 - 14) R.J. Jaeger, R.J. Rubin: *Science*, 170, 460 (1970)
 - 15) 笹川滋ら: 日本輸血学会誌, 20, 100 (1974)
 - 16) R.J. Rubin, P.P. Nair: *New Eng. J. Med.*, 288, 915 (1973)
 - 17) D.J. Nazir et al.: *Biochemistry*, 10, 4228 (1971)
 - 18) 小儀国太郎: 神奈川衛生研究年報, 23, 101 (1974)
 - 19) D.B. Roll, J.D. Douglas, R.V. Petersen: *J. Pharm. Sci.*, 63, 1628 (1974)
 - 20) J. Neegaard et al.: *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 5, 141 (1971)
 - 21) 小野慶治, 立川涼, 脇本忠明: 日本医事新報, No.2642, 24 (1974)
 - 22) A.R. Singh et al.: *J. Pharm. Sci.*, 61, 51 (1972)
 - 23) L.S. Hillman et al.: *New Eng. J. Med.*, 292, 381 (1975)
 - 24) 大場琢磨ら: “新しい血液バッグ用材質の試験成績について”, 第95回日本薬学会年会発表 (昭和50年4月)

ガスクロマトグラフィーによる油剤および乳剤中のダイアジノンの定量

鯉淵昌信・柴崎利雄・井上哲男

Gas-liquid Chromatographic Determination of Diazinon in the Oil Solutions and the Emulsifiable Concentrates

Masanobu KOIBUCHI, Toshio SHIBAZAKI and Tetsuo INOUE

Diazinon in the insecticidal oil solutions and the emulsifiable concentrates was determined by gas-liquid chromatography with flame ionization detector (FID) after a column chromatographic purification step.

When FID was used, some of the peaks derived from kerosene in the preparations overlapped with the peak of diazinon and interfered with the determination of diazinon. However this interference was removed by using silica gel (Wakogel C-200) in column chromatography prior to gas-liquid chromatography.

Method: The preparation equivalent to 0.02 g of diazinon was mixed with 20 ml of hexane. The solution was transferred quantitatively to the column which was made by glass tube (10 mm i.d., 30 cm long with a stopcock and filter, G-3) packed with 4 cm silica gel suspended in hexane. After washing with 20 ml of hexane, diazinon was eluted with acetone. 10 ml of acetone eluate was collected and was added with 1.0 ml of 3.0% diisobutylphthalate acetone solution as an internal standard solution. This was applied to gas-liquid chromatography. The operational conditions was as follows.

Apparatus: Hitachi K-23 gas chromatograph with FID; column: 2.5 mm i.d., 2 m length glass column; column packing: 60-80 mesh acid-washed and silanized Chromosorb W coated with 1.26% XF-1105; column temperature: 130°; injection and detector temperature: notch 9; carrier gas: nitrogen 25 ml/min.; injected volume: 1.0 μ l; sense: 9.0×10^{-10} AFS.

(Received May 31, 1975)

ダイアジノンは人畜に比較的低毒性の有機リン系殺虫剤として防疫用ならびに農業用に使用されている。防疫用市販製剤としては油剤（ダイアジノン 0.2~0.5 % w/v）および乳剤（ダイアジノン 2~5 % w/w）がある。

これらの品質管理のための分析法として、殺虫剤指針では定量法に滴定法を採用しているが、多量の試料を必要とし製剤分析、とくに混合製剤には不適当であるため、簡便・迅速で正確な方法が要求されている。

ダイアジノンのガスクロマトグラフィー (GC) による定量法には熱伝導度型検出器、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ装置を用いる方法があるが、これらは高濃度の水和剤（農薬）には適用可能であるが¹⁾、低濃度の油剤、乳剤には不適当である²⁾。一般にリン剤には近年、リン検出器付ガスクロマトグラフが用いられており、著者らもこの方法をダイアジノンに適用し良好な結果を得ている。しかし、この検出器は品質管理の分野にまで一般化されているとはいえない。著者らは汎用試験法として、最も広く普及され、

操作も簡単な水素炎イオン化検出器を用いる方法を検討し、前操作にシリカゲルカラムを用いて共存物を除去することにより、良好な結果を得たので報告する。

防疫用の油剤および乳剤は希釈剤として灯油が通例使用されている。ダイアジノンは比較的蒸気圧が高く、早く流出して来るため灯油中の高沸点部分がダイアジノンの流出位置まで広がり、定量を妨害してしまう。このため、水素炎イオン化検出器を用いたこれら製剤の定量法は確立されていない。

柴崎ら³⁾は殺虫剤の薄層クロマトグラフィーで、一般に有機リン剤は展開溶媒にヘキサンを用いると、殆んど原点にとどまり、極性溶媒ではよく移動することを報告している。今回、この現象をカラムクロマトグラフィーに応用し、妨害物質を除去することができた。

実験および結果

試薬 ダイアジノン（日本化薬株式会社製, 97.07%）；フタル酸ジイソブチル（東京化成, GR）；ヘキサン、

アセトン 試薬特級; シリカゲル (和光純薬, ワコーゲル C-200)

装置 ガスクロマトグラフ: 日立 K-23 水素炎イオン化検出器付

カラムクロマト管: 内径約 1 cm 長さ 30 cm でガラスフィルタ (G2) およびガラスコック付

定量法 表示量にしたがいダイアジノン ($C_{12}H_{21}O_3N_2$ PS) 約 0.02 g に対応する量を精密に量り, ヘキサン 20 ml を加えて混和し試料原液とする。クロマト管にヘキサンに懸濁させたシリカゲルを約 4 cm の高さに充填し, ヘキサンをシリカゲル層の上面まで流下させ, これに全試料原液を少量ずつ加え, 毎分 1~1.5 ml の速度で流下させる。全試料原液を流下させたのち, 原液容器をヘキサン 10 ml ずつで 2~3 回洗い, 順次, 先のクロマト管を通したのち, アセトンで溶出させ, 初めの 10 ml を正確にとる。この液に内標準溶液 1.0 ml を加えて混和し, 試料溶液とし, この一定容量 (1~2 μ l) をとり, つぎの条件でガスクロマトグラフィーを行ない, 検量線からダイアジノンの量を求める。

検量線の作成

ダイアジノン約 0.25 g を精密に量り, アセトンを加えて溶かし正確に 25 ml とする。この液 1 ml, 2 ml, 3 ml を正確に量り, アセトンを加えて正確に 10 ml としたのち, 内標準溶液* 1.0 ml を加えて混和し, それぞれ標準溶液とし, その一定容量 (1~2 μ l) をとり試料溶液と同様に操作し, 内標準物質ピーク高に対するダイアジノンのピーク高さ比を求め, ダイアジノン量 (mg) を横軸に, おおののピーク高さ比を縦軸にとり検量線を作成する。

* 内標準溶液 フタル酸ジイソブチル (ガスクロマトグラムが定量に支障のあるピークを認めないもの) 約 0.60 g を量り, アセトンを加えて溶かし, 正確に 20 ml とする。

ガスクロマトグラフィー条件

カラム: 内径 2.5 mm, 長さ 2 m の硬質ガラス製で, つぎの充填剤を均一につめたもの

充填剤: 酸洗いおよびラン処理した Chromosorb W (60~80 メッシュ) に, 担体重量の 1.26% の XF-1105 を均一にコーティングしたもの

検出器: 水素炎イオン化型

カラム温度: 130° 付近の一定温度

試料気化室および検出器温度: カラム温度より高い温度で最適温度に調整する。

キャリアガス: 窒素を用い 20~60 ml / 分の間の一定流量。

定量条件の検討 定量法を確立するためにつぎの諸条件を検討した。なお操作法は定量法にしたがった。

1) ガスクロマトグラフィーによるダイアジノンの再現性および検量線

カラム充填剤の固定相液体は種々検討したが, XF-1105 (1.26%) を用いたとき, 最も対称性の良いピークが得られたので, これを使用した。

標準溶液 1 μ l につきガスクロマトグラフィーを行ない, 内標準物質に対するダイアジノンのピーク高比を求めたところ, Table 1 に示すように良好な結果が得られ, また検量線も Fig. 1 に示すように原点を通る直線が得られ, GC による定量は満足ゆくものと思われた。

Table 1. Repeatability of peak height ratio of diazinon using flame ionization detector

	Diazinon mg. in 11 ml 10.303 mg	20.605 mg
	0.399	0.797
	0.391	0.790
	0.392	0.783
	0.397	0.786
	0.394	0.796
	0.398	0.780
	0.390	0.792
a.v.	0.394	0.789
s.	0.0036	0.0064
C.V.	0.9%	0.8%

* internal standard: diisobutylphthalate

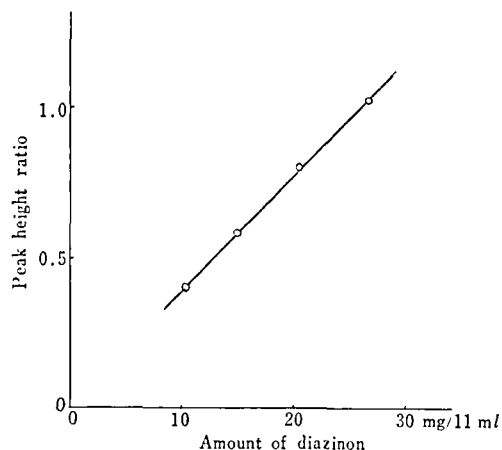


Fig. 1. Calibration curve of diazinon
*internal standard: diisobutylphthalate

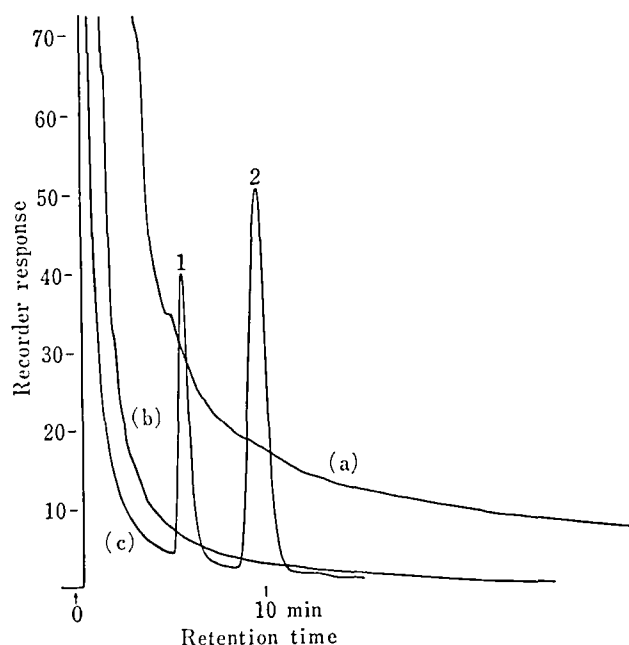


Fig. 2. Gas chromatogram of kerosene and diazinon

conditions: 1.26% XF-1105 on Chromosorb W (60-80 mesh, acid washed and silanized) at 130°, carrier gas: N₂ 25 ml/min. detector: flame ionization
(a) kerosene (b) kerosene, treated (c) diazinon (1) and diisobutylphthalate (2) (I.S.) in acetone, sample size: 1.0 μ l

2) 製剤中の希釈剤の影響と除去

市販の油剤、乳剤では希釈剤として灯油を用いている。ダイアジノンの濃度が少ない油剤ではクロマトグラム上に測定しやすいダイアジノンピークを得るためには FID の検出感度上 0.2% のダイアジノン溶液では 1.0 μ l を注入する必要がある。従って 0.2% 油剤では原液 1.0 μ l を注入することになる。そこで灯油 1.0 μ l を注入した場合、Fig. 2-a に示すように溶媒の幅が広がってしまう。一方、Fig. 2-b は灯油 10 ml を定量法に示したシリカゲルカラムを通し、ヘキサンで洗い、アセトンで溶出した液 1.0 μ l を注入したクロマトグラムであるが、灯油によるピーク幅をかなり減少させることが出来た。なお、Fig. 2-c はダイアジノン 20mg およびフタル酸ジイソブチル 30mg にアセトンを加えて溶かし 11 ml とした液を 1.0 μ l 注入した時のクロマトグラムを示した。

従って灯油を用いている製剤では、高沸点成分の除去が必要であり、シリカゲルカラム処理は十分この役を果たしている。

3) シリカゲル充填量とダイアジノン回収率

シリカゲルカラムの層長 2~10cm につき、ダイアジノンの回収率を検討したところ、Table 2 に示すような結果が得られた。これは層長 2cm でもダイアジノンはよくシリカゲルに吸着され、層長 10cm でもヘキサン洗滌後、アセトンで溶出させ、はじめの 10 ml 中に全ダイアジノンが溶出されたことを示すものである。この結果、層長を 4cm とした。

4) カラム処理によるダイアジノンの回収率

カラム層を 4cm として、回収されるダイアジノンの回収率を見たところ、再現性もよく、Table 3 に示すように十分満足ゆく結果が得られた。

Table 2. Recovery of diazinon from silica gel column at various silica gel length

column length (cm)	recovery (%)
2	98.8
4	100.0
6	98.8
8	97.4
10	98.1

Diazinon; 20.605 mg in 10 ml hexane
Silica gel; Wako gel for column chromatography, C-200

Table 3. Repeatability of diazinon recovery from silica gel column (using 4 cm)

No.	recovery (%)
1	99.2
2	100.0
3	99.0
4	98.2
5	98.2
6	100.0
av.	99.1
s	0.81
C.V.	0.8%

Diazinon; 20.605 mg in 10 ml hexane

Table 4. Determination of commercial preparations

i) Oil, Diazinon 0.2%

diazinon declared (mg)	found (%)
20	100.5
20	99.9
20	99.8
means	100.1

* composition: diazinon 0.2% w/v; DDVP 0.3% w/v; phthalthrane 0.02% w/v; piperonylbutoxide 0.1% w/v; and kerosene

ii) Emulsion, Diazinon 3.0% w/w

diazinon declared (mg)	found (%)
20.36	100.2
20.30	99.8
20.40	99.5
means	99.8

** composition: diazinon 3.0% w/w; DDVP 2.0% w/w; *o*-dichlorobenzene 40% w/w; cresol 5% w/w; emulsifur 5.0% w/w and kerosene

製剤分析

定量法に示す操作にしたがい、市販のダイアジノン油剤および乳剤の定量を行なった。その結果を Table 4 に示す。また、その時得られたクロマトグラムを Fig. 3 に示した。

結 語

希釈剤に灯油を使用した油剤、乳剤中のダイアジノンは従来 GC (FID) による定量は困難であったが、シリカゲルカラムを通すことによって希釈剤の影響を除去することが出来たので、最も普及されている FID を用いて簡便・迅速に分析することができた。なお、

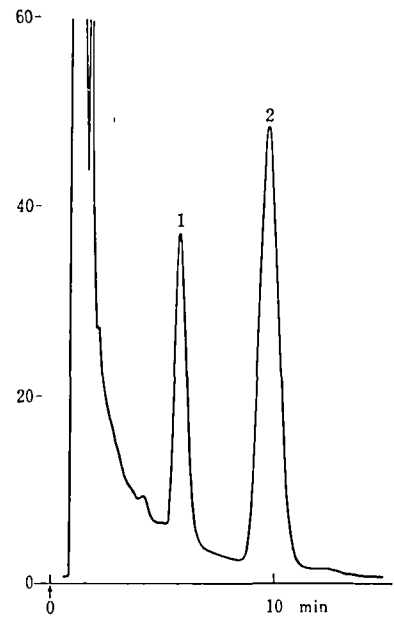


Fig. 3. Gas chromatogram of diazinon and diisobutylphthalate (I.S.)

1: diazinon 2: diisobutylphthalate

conditions: 1.26% XF-1105 on Chromosorb W (60-80 mesh, acid washed and silanized)
column temp.: 130°
carrier gas: N₂ 25 ml/min.
Detector; flame ionization
sense: 9.0×10^{-10} AFS

前処理にカラムを用いる操作は簡便で多数の検体の処理も容易である。

文 献

- 1) 金沢 純: 分析化学, 14, 20 (1965)
- 2) 堀場正雄, 北原 一, 村野 敦: 分析化学, 22, 595 (1973)
- 3) 柴崎利雄ら: 衛生試験, 82, 76 (1964)

二波長クロマトスキャナによる各種感冒剤の分離定量（第2報）

井上哲男・立沢政義・石井豊三*・井上優美子

Determination of Anti-cold Agents in Pharmaceutical Preparations
by the Dual-wavelength Chromatoscanner

Tetsuo INOUE, Masayoshi TATSUZAWA, Toyozo ISHII and Yumiko INOUE

A simple method for the determination of aminopyrine, phenacetin, caffeine, quinine and quinine ethylcarbonate in the pharmaceutical preparations was studied. The substances were extracted from the preparations with methanol and separated by thin-layer chromatography.

Each spots on the plate was determined with Dual-wavelength chromatoscanner.

(Received May 31, 1975)

緒 言

現在、感冒剤は、解熱鎮痛剤を主体としてこれに鎮咳剤、去痰剤および抗ヒスタミン剤などの各成分が配合されており、通常3~10種類の薬剤が配合されている。

これらの混合剤の定量は、通常比色法¹⁻⁵⁾、ガスクロマトグラフ法^{6,7)} または、液体クロマトグラフ法⁸⁾ などが用いられている。

著者らは、さきにスルファミン剤の定量に薄層クロマトグラフ法で分離後、二波長クロマトスキャナを用いる方法を確立し報告⁹⁾ したが、ここに日本薬局方第二部製剤および47処方（日本薬剤師会指定）のうち感冒剤につきこの方法による定量法を確立したので報告する。

従来薄層板上におけるデントメトリーによる定量は、吸着剤の影響が大であり利用されておらず、通常各スポットをかき取り、溶媒で抽出後紫外吸収法または比色法で定量する方法が用いられていた。最近二波長ジグザグ方式クロマトスキャナの出現により薄層板上での直接定量が可能となり¹⁰⁾、混合剤の分離定量が簡単にできるようになった。

本報では、フェナセチン(Ph)、アミノピリン(Am)、カフェイン(Cf)、マレイン酸クロルフェニラミン(Cp)、エチル炭酸キニーネ(Qe)および塩酸キニーネ(Q)などを配合した剤の定量法を確立した。

薄層板は、Kieselgel 60 F₂₅₄ を用い、処方に応じてそれぞれ適当の溶媒を用いて各成分を分離後、二波長クロマトスキャナにより紫外吸収法で直接定量した。

Ph-Am-Cf 散および同系統の薬剤は、クロロホル

ム・アセトン・氷酢酸(40:10:1)、Ph-Qe 散は、エーテル、Q-Am 散は、エーテル・エタノール・アンモニア水(40:10:1)を展開溶媒として分離した。分離したそれぞれのスポットにつき λ_R 360 nm（薄層板の吸収のゼロとなる波長） λ_S は、目的成分の吸収極大波長を用い、Ph は 250 nm、Am は 240 nm、Cf は 273 nm、Qe は 237 nm および Q は 235 nm を用い各二波長でスキャナを走査し、記録紙上のピーク面積積分値より各成分の定量を行なう。

本装置を用いた場合一定の範囲内において直線性のある検量線が得られるが、反射方式で吸光度を測定しているため、スポットの状態により勾配に変動がある。従って実際の定量の際には、標準を同時にスポットして同一条件で展開後定量する必要がある。

実験方法および結果

1. 試料、試薬、試液および装置

Ph, Am, Cf, Qe, Q, ブロムワレリル尿素(Bvu), 塩酸チアミン(VB₁), リボフラビン(VB₂) (以上日本薬局方品)

薄層板 キーゼルゲルガラスプレート(Kieselgel 60 F₂₅₄, けい光剤入り, 厚さ 0.25 mm, メルク社製)
展開溶媒 (1)クロロホルム・アセトン・氷酢酸(40:10:1), (2)酢酸エチル・*n*-ヘキサン・氷酢酸(30:20:1), (3)エーテル, (4)エーテル・エタノール・アンモニア水(40:10:1)

島津二波長クロマトスキャナ CS-900 型

付属品: リニヤライザー, ベースライン補正装置

2. 分離定量

(i) フェナセチン・アミノピリン・カフェイン散(Ph 200 mg, Am 100 mg, Cf 50 mg, デンプン, 乳糖またはこれらの混合物 50 mg)

* 防衛庁陸上幕僚監部

a. 標準溶液

Ph 標準溶液: Ph 200 mg をとり, メタノールを加えて溶かし 50 ml とする. (4 mg/ml)

Am 標準溶液: Am 100 mg をとり, メタノールを加えて溶かし 50 ml とする. (2 mg/ml)

Cf 標準溶液: Cf 50 mg をとり, メタノールを加えて溶かし 50 ml とする. (1 mg/ml)

b. 試料溶液

試料 (i) 1 g をとり, メタノール 40 ml を加えて振り混ぜたのち, メタノールを加えて 50 ml とする. これをろ過し, ろ液を試料溶液とする.

c. 薄層クロマトグラフ法による分離

標準溶液および試料溶液の 2 μ l ずつをマイクロキャピラル (DRUMMOND 社製) を用いてそれぞれ 3 コずつプレートの下端から 2 cm 位置に, 2 cm 間隔でスポットする. クロロホルム・アセトン・氷酢酸 (40:10:1) を展開溶媒として上昇法により, 20° で 10 cm の高さまで展開する. 展開後プレートを取出し, 風乾後紫外線照射器によりスポット位置を確認する.

d. 走査および積分値の測定

二波長クロマトスキャナに薄層板を固定し, 下記の測定条件により薄層板を走査し, 紫外外部吸収法によりそれぞれの記録図を描き, 面積積分値を測定し, 標準溶液濃度より試料濃度を求め定量する.

測定条件

測定方式: ジグザグスキャニング

スリット: 1.25 mm $\times$ 1.25 mm

走査速度: 10 mm/1分間

記録紙速度: 10 mm/1分間

測定波長: λ_R , 360 nm

λ_S , Ph 250 nm, Am 240 nm

Cf 273 nm

以下 (ii) ~ (vi) の製剤については, それぞれの標準溶液および試料溶液は Table 1, 2 に示す量を秤取し, (i) a, b と同様の操作を行ない調製する. また, 展開溶媒は Table 3 に示すものを用い, 実験方法 2-(i)-C と同様の操作を行ない分離する. 測定波長は Table 3 に示す波長を用い, (i) d と同様の操作を行ない定量する.

(ii) フェナセチン・アミノピリン・カフェイン・プロパリン散 (Ph 800 mg, Am 300 mg, Cf 200 mg, Cp 10 mg, Bvu 600 mg, デンブン 1.09 g)

(iii) フェナセチン・アミノピリン・カフェイン・ビタミン散 (Ph 800 mg, Am 300 mg, Cf 150 mg, Cp 10 mg, VB₁ 10 mg, VB₂ 2 mg, デンブン 1.73 g)

(iv) フェナセチン・カフェイン・クロロフェニラミン散 (Ph 1.2 g, Cf 200 mg, Cp 10 mg, デンブン 1.59 g)

(v) 複方エチル炭酸キニーネ散 (Qe 300 mg, Ph 300 mg, カンゾウ末 400 mg)

(vi) キニーネ・アミノピリン散 (Q 200 mg, Am 200 mg, デンブン, 乳糖またはこれらの混合物 600 mg)

3. 定量条件の検討

a. 展開溶媒の検討

感冒剤中の各成分を分離する条件として, 展開溶媒につき検討した. また薄層板は, 定量上或程度の精度を必要とすることを考慮して既製のものを用いることにした. Kieselgel 60 F₂₅₄ を吸着剤とした場合の中性, 酸性および塩基性の各混合溶媒につき各成分の分離性を検討した. 一般に酸性物質は酸性溶媒で, また, 塩基性物質は塩基性溶媒で移動し易いことは知られており, (I) クロロホルム・アセトン・氷酢酸

Table 1. Standard solutions

Standard	Take, Standard		Sample No.
Phenacetin	200 mg/50 ml	(4 mg/ml)	i, ii
	225 mg/50 ml	(4.5 mg/ml)	iii
	300 mg/50 ml	(6 mg/ml)	iv, v
Aminopyrine	100 mg/50 ml	(2 mg/ml)	i
	75 mg/50 ml	(1.5 mg/ml)	ii, iii
	200 mg/50 ml	(4 mg/ml)	vi
Caffeine	50 mg/50 ml	(1 mg/ml)	i, iv
Quinine ethylcarbonate	300 mg/50 ml	(6 mg/ml)	v
Quinine HCl	200 mg/50 ml	(4 mg/ml)	vi

Table 2. Sample solution

Sample No.	Take, Sample	Component		
i	1 g/50 ml	Phenacetin	200 mg	(4 mg/ml)
		Aminopyrine	100 mg	(2 mg/ml)
		Caffeine	50 mg	(1 mg/ml)
ii	750 mg/50 ml	Phenacetin	200 mg	(4 mg/ml)
		Aminopyrine	75 mg	(1.5 mg/ml)
		Caffeine	50 mg	(1 mg/ml)
iii	1 g/50 ml	Phenacetin	225 mg	(4.5 mg/ml)
		Aminopyrine	100 mg	(2 mg/ml)
		Caffeine	50 mg	(1 mg/ml)
iv	750 mg/50 ml	Phenacetin	300 mg	(6 mg/ml)
		Caffeine	50 mg	(1 mg/ml)
v	1 g/50 ml	Phenacetin	300 mg	(6 mg/ml)
		Quinine ethyl-carbonate	300 mg	(6 mg/ml)
vi	1 g/50 ml	Aminopyrine	200 mg	(4 mg/ml)
		Quinine HCl	200 mg	(4 mg/ml)

Table 3. Wavelength and solvents

Substance	Wavelength (nm)		Solvents	Sample No.
	λ_R	λ_S		
Phenacetin	360	250	Chloroform-Acetone-glacial Acetic acid (40:10:1)	i—iv
	360	250	Ether	v
Aminopyrine	360	240	Chloroform-Acetone-glacial Acetic acid (40:10:1)	i—iii
	360	240	Ether-Ethanol-Ammonia water (40:10:1)	vi
Caffeine	360	273	Chloroform-Acetone-glacial Acetic acid (40:10:1)	i—iv
Quinine ethylcarbonate	360	273	Ether	v
Quinine HCl	360	235	Ether-Ethanol-Ammonia water (40:10:1)	vi

(40:10:1), (II) 酢酸エチル・*n*-ヘキサン・氷酢酸 (30:20:1), (III) エーテル, (IV) エーテル・エタノール・アンモニア水 (40:10:1) などの溶媒につき検討した結果は Table 4 に示すとおりである。二波長クロマトスキャナ法による定量の際, 各成分の分離性は申すまでもなく, スポットのまとまりが検量線の直線に影響する。スポットのへん平またはテーリングのない溶媒として, Am-Ph-Cf 系では, 溶媒 (I), Ph-Qeでは溶媒 (III), Am-Q 系では溶媒 (IV) が最も良好であった。Am と Cf の分離は, 溶媒 (II) (III) は悪

く, また Cf は, 溶媒 (III) (IV) ではテーリングする。Qe は, 溶媒 (IV) の如き塩基性溶媒を用いると分解し好ましくなかった。各製剤についての至適溶媒により展開した TLC の図は Fig. 1 に示す。

b. 直線性の検討

Am, Ph, Cf, Qe および Q の 2 mg/ml, 4 mg/ml, 6 mg/ml, 8 mg/ml および 10 mg/ml のそれぞれの濃度の標準溶液を作製し, 2 μ l ずつをスポットし, Ph は溶媒 (I), (II), (III), Cf は (I), (II), Am は (I), (IV), Qe は (III), Q は (IV) を用いそれぞれを

Table 4. *Rf* vales of antipyretics, analgesics, antihistamins and vitamins in some solvents

Solvents systems substance	<i>Rf</i> ×100			
	I	II	III	IV
Aminopyrine	34	3	28	83
Phenacetin	60	34	46	96
Caffeine	54	5	17	70
Quinine ethylcarbonate	6	0	8	90, 97
Quinine HCl	7	0	0	60
Chlorpheniramine maleate	2	0	0	0, 35
Bromvalerylurea	63	82	89	95
Thiamine	42	1	28	46
Ribofravine	44	2	2	46

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄

Solvents systems

I: Chloroform-Acetone-glacial Acetic acid
(40 : 10 : 1)II: Ethylacetate-*n*-Hexane-glacial Acetic acid
(30 : 20 : 1)

III: Ether

IV: Ether-Ethanol-Ammonia water
(40 : 10 : 1)

Detected by ultraviolet absorption method

展開後、各スポットにつき吸光度を測定した。その結果は Fig. 2~5 に示すとおりいずれも 1~20 μ g の範囲で原点を通る直線が得られた。

c. スポットの状態と直線性の関係

クロマトグラフ法で分離した成分のスポットは、*Rf* 値が大になるとその面積も大となることは知られており、スポットの状態と直線性との関係を検討した。

まず Am, Ph, Cf の 2 mg/ml, 4 mg/ml, 6 mg/ml および 10 mg/ml の溶液を調製する。その 10 mg/ml の溶液の 2 μ l をスポットし、クロロホルム・アセトン・氷酢酸の混合溶媒系の各配合比を (a) 45 : 5 : 1, (b) 40 : 10 : 1, (c) 40 : 10 : 2, (d) 40 : 10 : 0.5 とし、それぞれ展開した結果 Fig. 6 に示すとおり、アセトンの増加によりそれぞれの *Rf* 値が大となる。溶媒(a)では、展開時に薄層板上で溶媒が分離して移動するため、その前端に Ph が乗り移動し、スポットがへん平となる。各成分のスポットのまとまりの点では(b)が最も良好である。

つぎに各濃度の異なる Am, Ph, Cf 混液の 2 μ l ずつスポットし、溶媒(a), (b), (c)のそれぞれで展開し、吸

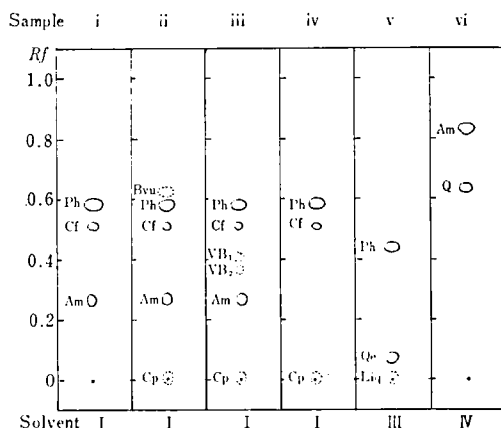


Fig. 1. Thin-layer chromatograms of phenacetin, caffeine, aminopyrine bromvalerylurea, chlorpheniramine maleate, thiamine, ribofravine, quinine ethylcarbonate, liquoris powder and quinine HCl

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄

Solvent systems

I: Chloroform-Acetone-glacial Acetic acid
(40 : 10 : 1)

III: Ether

IV: Ether-Ethanol-Ammonia water (30:20:1)

Ph: Phenacetin Cf: Caffeine

Am: Aminopyrine Bvu: Bromvalerylurea

Cp: Chlorpheniramine maleate

VB₁: Thiamine VB₂: Ribofravine

Qe: Quinine ethylcarbonate

Liq: Liquoris powder Q: Quinine HCl

光度(面積積分値)を測定し、検量線を作製した。Am, Cf の場合いずれの溶媒も検量線の勾配に大差を認めないが、Ph の場合溶媒 a では、不規則なまた低い勾配を示した。

これらの吸光度は、反射光を測定しているため、スポットのまとまりの状態により単位面積当りの吸光度が異なる。従って溶媒により、検量線の勾配が異なるが、同一薄層板上で展開した場合は一定である。

4. 製剤の定量

第 8 改正日本薬局方二部および日本薬剤師会指定 47 処方処方に基づいて試料を調製し、各製剤中の Am, Ph, Cf, Qe, Q の定量を行なった結果、Table 5 に示すとおり良好な結果を得た。二成分系、三成分系は中すまでもなく、試料 ii および iii などの五~六成分系の場合でも本法では十分定量可能である。

多成分系中 Cp, VB₁, VB₂ は、配合量が極めて少なくかつ Bvu はほとんど吸収を示さないため妨害とならなかった。

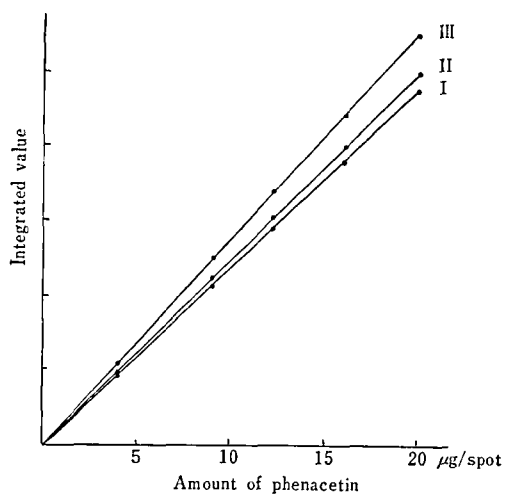


Fig. 2. Calibration curves of phenacetin

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄Solvents: I: Chloroform-Acetone-glacial
Acetic acid (40:10:1)II: Ethyl acetate-*n*-Hexane-glacial
Acetic acid (30:20:1)

III: Ether

Wavelength: Phenacetin: 360 nm-250 nm

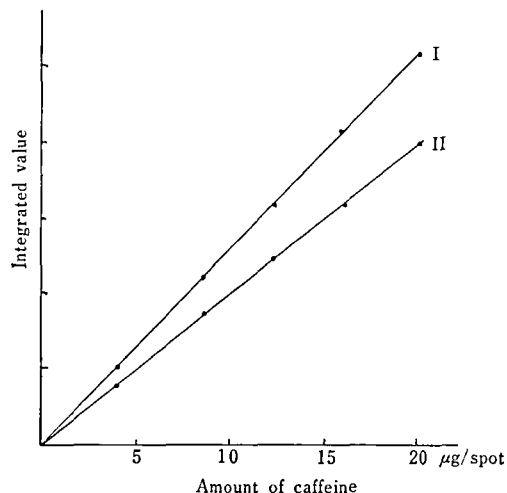


Fig. 3. Calibration curves of caffeine

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄Solvents: I: Chloroform-Acetone-glacial
Acetic acid (40:10:1)II: Ethyl acetate-*n*-Hexane-glacial
Acetic acid (30:20:1)

Wavelength: Caffeine 360 nm-273 nm

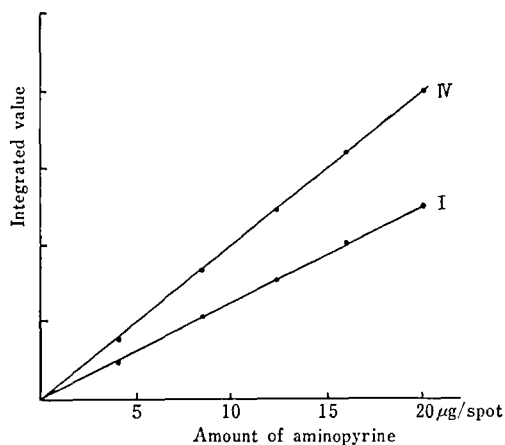


Fig. 4. Calibration curves of aminopyrine

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄Solvents: I: Chloroform-Acetone-glacial
Acetic acid (40:10:1)IV: Ether-Ethanol-Ammonia water
(40:10:1)

Wavelength: Aminopyrine: 360 nm-240 nm

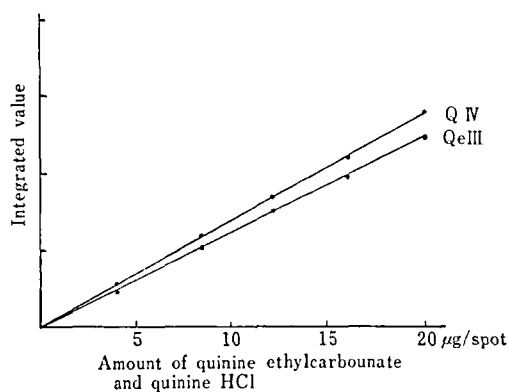


Fig. 5. Calibration curves of quinine ethylcarbonate and quinine HCl

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄

Solvents: III: Ether

IV: Ether-Ethanol-Ammonia water
(40:10:1)Wavelength: Quinine ethylcarbonate (Qe)
360 nm-250 nm Quinine HCl (Q)
360 nm-235 nm

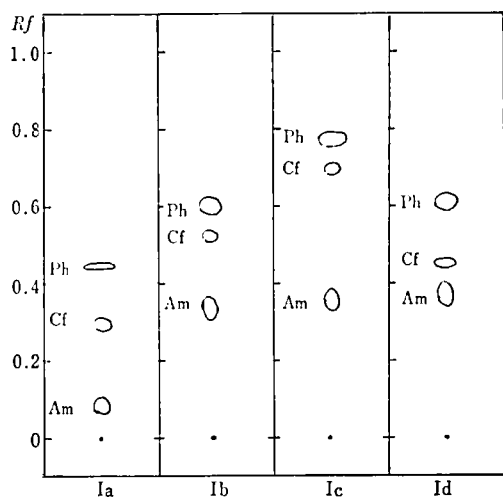


Fig. 6. Thin-layer chromatograms of phenacetin, caffeine and aminopyrine in some solvents

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄

Solvents: I a: Chloroform-Acetone-glacial Acetic acid (45:5:1)

I b: (40:10:1)

I c: (40:10:2)

I d: (40:10:0.5)

Ph: Phenacetin Am: Aminopyrine

Cf: Caffeine

以上二波長クロマトスキャナ法を用いれば比較的複雑な製剤でも容易に定量が可能である。

結 語

二波長クロマトスキャナによる各種感冒剤中のフェナセチン、アミノピリン、カフェイン、エチル炭酸キニーネおよび塩酸キニーネの定量を行なった。

各成分は、Kieselgel 60 F₂₅₄ を吸着剤とし、それぞれ処方に応じて至適の溶媒で分離後、紫外部吸収法で定量した。

本法は、二波長ジグザグスキャナを用いることにより定量的に直接プレート上で定量することができる。また、液体クロマトグラフ法に比べて少量の溶媒でかつ種々の溶媒が簡単に利用でき、分離能も良好で簡易定量法として有力な手段である。

文 献

- 1) 尾西良一, 小野真一: 薬誌, 85, 245 (1965)
- 2) 井上哲男, 立沢政義, 北条正躬: 衛生化学, 21, 75 (1974)
- 3) 井上哲男, 立沢政義, 羅美頭: 衛生化学, 18, 381 (1972)
- 4) 立沢政義, 中山修二, 大河原晃: 分析化学, 19, 761 (1970)

Table 5. Determination of phenacetin, aminopyrine, caffeine, quinine ethylcarbonate and quinine HCl in the mixed pharmaceutical preparations

	Recovery (%)					
	i	ii	iii	iv	v	vi
Phenacetin	99.0	100.5	100.2	99.5	99.8	99.2
Aminopyrine	99.8	99.5	99.3	—	—	99.8
Caffeine	99.2	98.9	99.3	99.3	—	—
Quinine ethylcarbonate	—	—	—	—	99.7	—
Quinine HCl	—	—	—	—	—	99.5

Sample i: Phenacetin 200 mg, Aminopyrine 100 mg, Caffeine 50 mg, Starch 650 mg

ii: Aminopyrine 300 mg, Phenacetin 800 mg, Caffeine 200 mg, Chlorpheniramine maleate 10 mg, Bromvalerylurea 600 mg, Starch 1.09 g

iii: Aminopyrine 300 mg, Phenacetin 800 mg, Caffeine 150 mg, Thiamine HCl 10 mg, Riboflavin 2 mg, Chlorpheniramine maleate 10 mg, Starch 1.73 g

iv: Phenacetin 1.2 g, Chlorpheniramine maleate 10 mg, Caffeine 200 mg, Starch 1.59 g

v: Phenacetin 300 mg, Quinine ethylcarbonate 300 mg, Powder Liquoris 400 mg

vi: Aminopyrine 200 mg, Quinine HCl 200 mg, Starch 600 mg

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄

Solvents systems

I: Chloroform-Acetone-glacial Acetic acid (40:10:1)—Sample i—iv

III: Ether—Sample v

IV: Ether-Ethanol-Ammonia water (40:10:1)—Sample vi

Wavelength: Aminopyrine: 360 nm—240 nm

Phenacetin: 360 nm—250 nm

Caffeine: 360 nm—273 nm

Quinine ethylcarbonate: 360 nm—237 nm

Quinine HCl: 360 nm—235 nm

- 5) 井上哲男, 立沢政義, 中込 誠: 分析化学, **19**, 766 (1970)
- 6) 河合 聡, 服部哲靖, 小滝美知子: 分析化学, **13**, 872 (1964)
- 7) 鯉淵昌信, 柳沢清利: 衛生試験, **85**, 4 (1967)
- 8) 柴崎利雄, 石橋無味雄, 石橋久子, 井上哲男: 日本薬学会93年会講演要旨, **42** (1973)
- 9) 井上哲男, 立沢政義, 李樹其: 医薬品研究, **6**, 154 (1975)
- 10) 山本裕志, 栗田 昂, 鈴木十五郎, 平陸男, 眞壁樹: 分析化学, **23**, 133 (1974) **23**, 1016 (1974)

磁場掃引速度とミニコンによる高分解能スペクトルの分解能について

葉多謙蔵・阿部久人

Fast Scan High-Resolution Mass Spectrometry Using an On-Line Minicomputer

Kenzoh KANOHTA and Hisato ABE

It is worth mentioning that resolving power of a magnetic field scan high-resolution mass spectrometer (HMS) *per se* and resolution obtained from HMS-Computer system is quite a different matter. In the latter case the reliability of HMS data depends upon sampling rate and mode of data processing of a computer available. The authors present the possibility of on-line data processing of fast scan HMS using "Peak profiles monitoring program".

Fig. 1 shows relationship between scan rate of HMS and peaks profiles of $C_2F_4^+$ and $C_7H_{16}^+$ (mass difference 131.6 mmu). An extraordinary low threshold level for peak recognition was settled to observe the exact peaks profiles. It is found from a table that even these doublet can be rightly data processed.

Influences of apertures of main and collector slits on resolving power are also discussed.

(Received May 31, 1975)

ま え が き

ガスクロマトグラフィーでは溶出ピーク幅が数秒と
 いうような事例は屢々見受けられ、質量分析計 (MS)
 を検出器とするガスクロマトグラフィーにおいては質
 量スペクトルはなるべく短時間に測定することが望ま
 しい。磁場掃引法による MS において高速掃引する
 程パターン係数に関する情報は正しくなるのは自明の
 理であるが、その際掃引磁場の再現性などが確認され
 なければならず、ミニコンを利用するシステムを用い
 る場合には MS とミニコンによるデータ収集・処理
 の分解能は互に独立しており、MS ではダブルレットビ
 ークと観測されてもミニコンのデータ処理アルゴリ
 ズムによってはシングレットとみなされてミリ質量数の
 計測誤差が不当に大となる可能性もある。

現在市販されているミニコンによる MS データ処
 理システムでは以上のような現象をチェックするプロ
 グラムを欠いており得られるデータを信用するほかは
 ないというのが実状で、いきおい掃引速度を小とし、
 MS の各種スリット開口率を小さくして高分解能スペ
 クトルを得ており、その結果パターン係数に関する情
 報は不正確となる。

われわれは、MS イオンピークの出現現象をモニタ

ーするプログラムを用いて、磁場掃引速度と得られる
 分解能の関係について研究を行ない種々の知見を得た
 のでここに報告する。

実験装置および実験方法

1. 実験装置

日本電子製 01SG-2 型質量分析計に日本ミニコン
 製 NOVA01 型電子計算機を丸紅エレクトロニクス
 製の設計によるインターフェースを用いて連結し、同
 社による高分解能質量スペクトルデータ処理用ソフト
 ウェアを用いて実験を行なった。ピークモニター用プ
 ログラムは丸紅エレクトロニクス製に依頼作製したも
 のを用いた。

2. 実験方法

質量数基準物質としてパーフルオロアルカン
 (PFK) C, E 混合物 (東京化成) を用い、*n*-ヘプタン
 その他実験に供した化合物は SE-30 などを固定相と
 したガスクロマトグラフに注入してエンリッチャーを
 経て PFK と混合せしめ MS に導入した。

実験結果

1. MS の操作条件と掃引の再現性および掃引所要 時間

Table 1. m/e 10~180 を掃引するに要する時間

電場電圧	掃引速度			
	5(秒)	10(秒)	20(秒)	60(秒)
5 (kV)	1.9	3.6	6.0	16.3
10 (kV)	2.9	5.4	8.9	24.6*

* 数値の単位は秒で、その概略値を示してある

Table 1 は電場電圧および掃引速度をパラメータとして m/e 10~180 を掃引するに要する時間を示してある。掃引速度とは電場電圧各 5, 10 kV でそれぞれ m/e : ~1000, ~500 を観測するに要する時間である。

磁場掃引の再現性については、掃引初期値を m/e : 0 (磁場電流値: 0) とする時掃引終了後初期値に復帰する際残留磁気のためにいちじるしく不良となることが明らかとなり、 m/e が約 10 に対応するような磁場電流 (約 0.6 A) 値を初期条件とすると、掃引終了後待時間を約 1 分以内として実験の再現性がよく実用的であることがわかった。

2. 磁場掃引速度と近接ピークの分離

磁場掃引速度の増加とともにピーク出現時間の間隔は小さくなって分解能の低下を招来し、電子計算機のオンラインデータ処理速度とイオンのピーク出現現象の速度が類似してくると遂にはデータ処理不能となってしまう。

Fig. 1 は n -ヘプタンを SE-30 を充填剤とするガスクロマトグラフを通じてイオン源に導入し、PFK は質量基準物質導入装置から随時イオン源に導入して両者を混合させた系につき掃引速度と $C_2F_4^+$ (m/e : 99.9936), $C_7H_{16}^+$ (両者の ΔM : 131.6 mmu) の出現状況を、ピーク現象モニタープログラムを用いて観測した結果である。なお、測定条件としては、通常の実験においては検出器出力ノイズを除去するためにデータ処理プログラムにはピーク判定閾値としてノイズの平均出力よりやや大きい電位をパラメータとして指示するが、この観測はピークの形状を明らかにすることを目的としているから、電位閾値を故意に引き下げて実験を行なった。この条件においても10秒掃引条件でピークの分離に必要な1単位データ収集点のピーク間隔が認められ両者は分離されている。5秒掃引ではピークはオーバーラップして、ピーク判定アルゴリズムによれば単一ピークとして処理されてしまう。

3. n -ヘプタンのデータ収集・処理

前節における $C_2F_4^+$ と $C_7H_{16}^+$ のピークの観測はピーク判定閾値を故意に小とした。この様な実験条件で

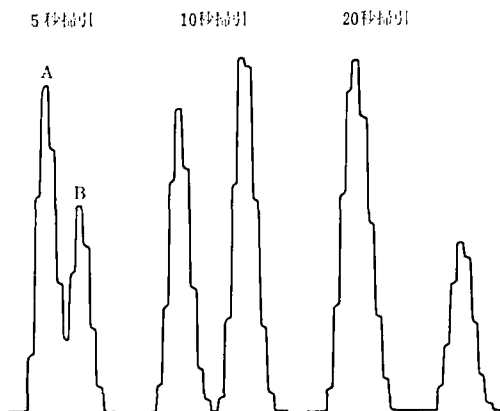


Fig. 1. 磁場掃引速度とピーク分離現象

電場電圧 5 kV

主スリット 40 μ m

検出器スリット 30 μ m

単位データ収集

時間 200 μ s

A: $C_2F_4^+$

B: $C_7H_{16}^+$

Table 2. 掃引速度と $C_2F_4^+$, $C_7H_{16}^+$ の分別

掃引速度 (sec)	主スリット (μ m)	試料	強度 (mV)	誤差 (mmu)
5	40 ^{c)}	$C_2F_4^{a)}$	981	-0.4
		$C_7H_{16}^{b)}$	532	+4.3
	100 ^{d)}	C_2F_4	1421	-0.4
		C_7H_{16}	581	-4.0
10 ^{e)}	40	C_2F_4	1076	-1.5
		C_7H_{16}	451	-5.3
	100	C_2F_4	3846	-3.0
		C_7H_{16}	1045	+1.1
	200	C_2F_4	1284	-3.5
		C_7H_{16}	481	+0.3

α , β スリット: 0.8 mm, コレクタースリット 30 μ m a) m/e 理論値 99.9936 amu, b) m/e 理論値 100.1252, c) d) e) のピーク判定閾電圧各 200, 400 および 30 mV

は多くのノイズがピークと判定され検出ピーク数は無限大となってデータ処理することが不能となる。実験の精度にかかわるパラメータとしては、掃引速度、主、 α , β およびコレクタースリットの開口率、イオン源における加速電圧、熱電子の照射に關する種々の因子、イオンレンズ電極の調整、検出器におけるゲインなどの MS に関する項と、試料濃度、ミニコンにおけるピーク判定閾値、ピーク出現時間計測用パラメータ、ピーク判定最小幅その他があり、その中には正確に制御することが困難なものもある。Table 2 は通常

Table 3. 各種質量数イオンとピーク幅

m/e	114	143	205	305	405	517	693
ピーク幅	8	9	10	11	12	13	12*

* $\times 2 \times 10^{-4}$ 秒

Table 4. 各種掃引速度における単位データ収集時間
(2×10^{-4} 秒) 当りのミリ質量数

m/e	掃引時間			
	5	10	20	60秒
100	27.7	13.8	8.8	3.0
200	37.8	20.7	12.7	4.7
300	45.0	25.3	15.3	5.6
400	51.8	28.6	17.3	6.2
500	55.7	31.0	18.9	6.8
600	59.3	32.8	20.0	7.3*

* 単位: mmu

測定に用いられる操作条件下に得られた $C_2F_4^+$ および $C_7H_{16}^+$ の観測結果を示しており、5秒掃引においても精度の良好な値が得られるといえることができる。

4. 質量数とそのピーク幅時間およびミニコンのデータ収集速度の関係

Table 2 は m/e : 100~700 までの PFK フラグメントイオンのうちピーク強度がほぼ等しいイオンを選んで、掃引速度を10秒として実験して得られたピーク幅である。この場合においてもピーク現象を正確に観測するためにバックグラウンド電位は低く設定してある。試料濃度の相異により幅が変動することは当然である。Table 3 から同程度の強度を有するピークでは m/e が 100 と 700 の間では出現時間幅では 50% のひろがり認められる。

また Table 4 は掃引時間をパラメーターとして m/e : 100~600 のイオンについて得られる単位データ収集時間当りのミリ質量数当量である。

ピークを分別して判定するアルゴリズムは Fig. 2 に示すように、ピークの判定には最小3単位データ点数が、ピークの分別には最小1単位データ点数が必要であるから、 $m/e \sim 100$ を5秒掃引する場合 Table 3 から ΔM が $27.7 \times 4 = 111$ mmu より小さいときはピークの分離がなされない。Fig. 1 において $C_2F_4^+$ と $C_7H_{16}^+$ のピークが分離されていないのはピーク幅が3単位データ点より広いことに起因しており、ノイズの除去とあわせてピーク判定閾値の設定はデータ処理上

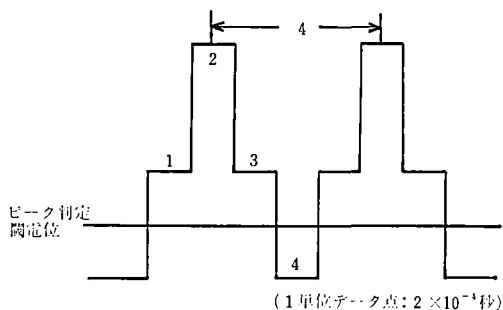


Fig. 2. ピーク分別判定アルゴリズム

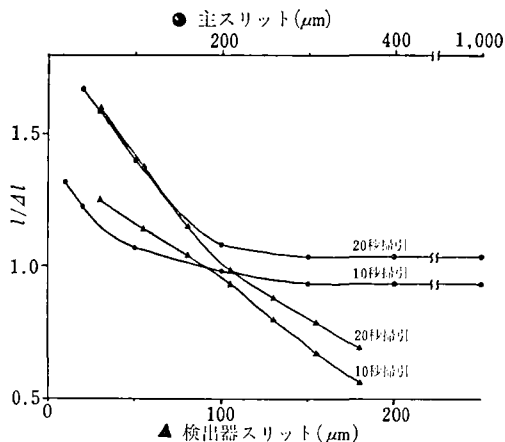


Fig. 3. スリット幅と分解能の関係

重要なパラメーターであることがわかる。

5. 各種スリットの開口率と分解能

各種スリットの開口率の分解能の関係について検索した結果、 α および β -スリットの開口率はほとんど分解能に影響しないことが明らかとなった。Fig. 3 に α , β -スリットをいずれも 0.8 mm として主および検出器スリットの開口率と掃引時間による分解能の関係を示している。検出器スリットの開口率と分解能の低下は概ね比例関係にあり、主スリットは 200 μm までは開口率を増加するに従って分解能は低下したが、それ以上開口するときにはあまり分解能の低下は観測されなかった。検出器スリットを 30 μm として主スリットを 200 μm としたとき Table 2 で示されるように掃引速度 10 秒の条件で n -ヘプタンの高分解能スペクトルを得ることができた。

考 察

磁場掃引法による高分解能質量分析法は掃引速度、パターン係数に関する情報の不正確さ、スリット開口

率の制約などの不利が指摘されていた。Biemann¹⁾, McLafferty²⁾は写真乾板法によって得られるスペクトルを電子計算機を用いてデータ処理しているが、一枚の乾板あたり20~60回の測定が終了しない限り写真現象が行えず、それを待ってスペクトル情報を得るという不便のあることは否めない。

Lipsky³⁾は磁場掃引法による高分解能質量分析法について、試料量、分解能と磁場掃引に必要な時間について論じ、分解能 10,000 ないし 30,000 を得るに必要な時間を試料量との関聯において 72~1000 秒と報告しているが、MS あるいは GC/MS を電子計算機を用いて処理するシステムは MS の応用の分野であって正確なデータが得られさえすれば充分で、数万という分解能が常に必要か疑問であり、逆にそのような分解能を示すスペクトルを得てもパターン係数に関する情報が不確かであればデータの総体的な価値はいちじるしく低下してしまうであろう。

Table 3 からわれわれのシステムでは掃引速度 5, 10, 20, 60 秒の条件で得られる分解能はそれぞれ約 1, 200, 2, 400, 3, 800, 11, 000 ($m/e:100$) と計算される。5 秒掃引時においては理想的な分析条件下にも 111 mmu 以内に隣接しているピークは分離し得ないのは明らかであるが、PFK など質量数基準物質を試料と混合して質量スペクトルを観測し、PFK フラグメントイオンに試料に由来するピークの精密質量数を算出する高分解能質量分析法においては、炭素、水素、チッ素および酸素元素で構成されている有機化合物の場合、分子およびそのフラグメントイオン相互間、ならびに PFK に由来するイオンとの質量差が数十 mmu というような例は例外的である。異種分子間のイオンについてはたとえば $C_5H_5N^+$, $^{13}C-C_5H_6^+$ のように $\Delta M:8.1$

mmu のような例があげられるが、両者の混合試料ではガスクロマトグラフによる分析の際分離されてしまい同時にイオン源に入ることがないので實際上考慮する必要はない。

電場電圧およびスリット開口率を一定として、ミコンを用いる MS システムでは、質量数差 M を掃引するに必要な時間 T_M と、分解するに必要な質量数差 ΔM の間には、 w をピーク幅、 τ を単位データ収集時間として(1)のような近似式が成立する。

$$T_M = kw\tau M / \Delta M \quad (1)$$

高分解能質量分析法の適用に先立って、試料に関する何等かの情報があるのは当然で、それに従って掃引速度を決定するとよい。先にあげた $C_5H_5N^+$, $^{13}C-C_5H_6^+$ の混合系では分子イオンピークの分離には(1)式から掃引に百数十秒といった時間を必要とすることがわかる。

スリットの開口率に関しては検出感度と直接関聯しており、開口率を小にすれば分解能の向上がはかれる一方検出感度は低下する。これに関しては別報においてくわしく報告することとして、高分解能スペクトルが得られる範囲で開口率を大とすることが望ましいといえることができる。

文 献

- 1) K. Biemann, P.V. Fennessey: *Chimia*, **21**, 226 (1967)
- 2) Rengachari Venkataraghavan, F.W. McLafferty, J.W. Amy: *Anal. Chem.*, **39**, 178 (1967)
- 3) S.R. Lipsky, W.J. McMurray, B.N. Greene: *ibid.*, **38**, 1194 (1966)

食品中の残留農薬分析に関する研究（第17報）
農作物中の残留テトラクロロイソフタロニトリルの分析法

寺西葉子・武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Food. (XVII)
Analytical Method of Tetrachloroisophthalonitrile Residue in Agricultural Products

Youko TERANISHI, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The analytical method for tetrachloroisophthalonitrile (TPN)* in agricultural products was investigated.

TPN could be detected separately from 11 kinds of organochlorine pesticides by gaschromatography with electron capture detector.

The silica gel column was eluted with 5% ether in *n*-hexane and was fractionated into the first eluate (50 ml) and the second one (100 ml). The latter was used for the gaschromatographical analysis of TPN.

Addition of phosphoric acid to homogenized sample gave good recovery.

According to the method for TPN established in the present study, the recovery test was carried out by fortification to 9 kinds of crops, and the recoveries were in the range of 42.5% to 94.3%.

(Received May 31, 1975)

テトラクロロイソフタロニトリル (TPN)* は、強力な保護殺菌剤として、園芸作物の病害に広い適用範囲をもち、残効性および耐雨性に富み、紫外線、酸あるいは熱に対して安定である。その使用量も近年急激に増加しつつある。

TPN のガスクロマトグラフィーについては Thompson ら¹⁾、Beyermann ら²⁾ の若干の報告があるに過ぎず、農作物中の残留分析法に関しては佐藤ら^{3,4)} の残留農薬対策委員会への報告があるが、農作物中に微量に存在する他の有機塩素農薬の影響については全く触れていない。

TPN の残留分析法の確立において、農作物中の有機塩素農薬を無視することはできず、これらを十分考慮する必要がある。しかしこの点を勘案した試験法はまだ報告されていない。

そこで今回、共存する可能性のある有機塩素農薬を考慮にいれた、農作物中の残留 TPN の分析法を検討し、満足すべき結果を得たので報告する。

実験方法

1. 実験材料

リンゴ、温州ミカン、キュウリ、トマト、白菜、ホウレンソウ、馬鈴薯、落花生、緑茶は市販品を使用した。

2. 試薬

* 商品名：ダコニール

蒸留水：全ガラス製蒸留装置により蒸留した水を、*n*-ヘキサンで2回洗浄したもの

リン酸：試薬特級

珪そう土：セライト-545 (ジョンマンビル社製)

シリカゲル：カラムクロマトグラフィー用シリカゲル 70~230 メッシュ (メルク社製)

活性炭：ダルコ G-60 (ダルコ社製)

ガスクロマト用カラム液層：シリコン OV-17, DEGS, シリコン SE-30, シリコン OV-225 (ガスクロ工業製)

TPN 標準品：和光純薬製

有機塩素農薬標準品：和光純薬製

TPN 標準溶液 (A)：*n*-ヘキサン 1 ml 中に TPN 1 μ g を含有する。

TPN 標準溶液 (B)：アセトン 1 ml 中に TPN 1 μ g を含有する。

有機塩素農薬標準溶液：*n*-ヘキサン 1 ml 中に α -, β -, γ -および δ -BHC, pp'-DDD, pp'-DDE, pp'-DDT, アルドリン, ディルドリン, エンドリン並びにヘプタクロル・エポキシドを各 0.05 μ g 含有する。

上記以外の試薬は前報⁵⁾に準じた。

3. 装置及び器具

ガスクロマトグラフ：GC-4BM (検出器 ⁶³Ni) 島津製作所製

吸引ろ過器：桐山式吸引ろ過装置

上記以外の装置および器具は前報⁵⁾に準じた。

4. 実験操作

4-1. ガスクロマトグラフ条件

a. 5% シリコン OV-17 (ガスクロム Q, 60~80 メッシュ)

カラム: 内径 3 mm, 長さ 1.5 m, ガラス製

温度: 試料注入口および検出器 270°, カラム 235°
キャリアガス: 高純度窒素ガス 0.6 kg/cm²

b. 2% DEGS+0.5% リン酸 (ガスクロム Q, 60~80 メッシュ)

カラム: 内径 3 mm, 長さ 1.5 m, ガラス製

温度: 試料注入口および検出器 270°, カラム 150°
キャリアガス: 高純度窒素ガス 1.0 kg/cm²

c. 1.5% シリコン SE-30 (ガスクロム Q, 60~80 メッシュ)

カラム: 内径 3 mm, 長さ 1.5 m, ガラス製

温度: 試料注入口および検出器 270°, カラム 130°
キャリアガス: 高純度窒素ガス 0.6 kg/cm²

d. 2% シリコン OV-225 (ガスクロム Q, 60~80 メッシュ)

カラム: 内径 3 mm, 長さ 1.0 m, ガラス製

温度: 試料注入口および検出器 270°, カラム 180°
キャリアガス: 高純度窒素ガス 0.6 kg/cm²

4-2. カラムクロマトグラフィー

a. シリカゲルカラム

内径 1.5 cm, 長さ 30 cm のクロマト管にシリカゲル 10 g を *n*-ヘキサンを用いた湿式法で充てんし, 更に無水硫酸ナトリウムを層積したカラムに試料を注入し, 5% エーテル含有 *n*-ヘキサンで溶出する。最初の溶出液 50 ml は除き, 次の 100 ml を集め, クデルナ・ダニッシュ濃縮器を用いて 50° 以下の水浴中で減圧下 5 ml に濃縮した。

b. 活性炭カラム

内径 1.5 cm, 長さ 30 cm クロマト管に活性炭-アビセル (1:10) の混合物 3 g を *n*-ヘキサンを用いた湿式法で充てんし, 更に無水硫酸ナトリウム 1 g を層積したカラムからベンゼン 100 ml で TPN を溶出し, 溶出液をクデルナ・ダニッシュ濃縮器を用いて 50° 以下の水浴中で減圧下 5 ml に濃縮した。

4-3. 抽出

細切後均一化された試料 100 g (ただし, 落花生 40 g, 製茶 20 g) を 500 ml 分液ロートにとり, リン酸 5 ml を加え軽く振り混ぜた後, アセトン 100 ml を加え振とう機で 10 分間激しく振とうし, セライト 545 を約 1 cm の厚さに敷いた吸引ロート上に注ぎ吸引ろ過する。ロート上の残渣は上記分液ロートにもどし, アセトン 100 ml を加え同様に操作を繰り返す。抽出

液はあわせて 5% 食塩水 400 ml の入っている 1 l 分液ロートに移し, 石油エーテル各 100 ml で 3 回振とう抽出する。全抽出液を蒸留水 100 ml で洗ったのち無水硫酸ナトリウムで脱水後, クデルナ・ダニッシュ濃縮器を用いて 50° 以下の水浴中で減圧下 5 ml に濃縮した。

なお落花生の場合, アセトニトリル 100 ml で 2 回抽出後, *n*-ヘキサン 100 ml で 2 回液々分配を行ない, アセトニトリル層を上記と同様に食塩水に加え, 石油エーテルで抽出した。

4-4. 添加回収実験

均一化試料 100 g (ただし, 落花生 40 g, 製茶 20 g) を 500 ml 分液ロートにとり, TPN 溶液 (B) を 1 ml 加え注意しながら振り混ぜて混和し室温に一時間放置後, 分析に供した。

実験結果

1. ガスクロマトグラフィー

9 種類のカラムを用い種々の条件で TPN と有機塩素農薬 11 種類の分離を検討した。Fig. 1 に比較的良好な分離を示す 4 種のカラムにおけるガスクロマトグラムを示したが, これらを用いることにより TPN は他の有機塩素農薬と分別定量が可能であることが認められた。これらの条件下における TPN の最小検出量は約 0.05 ng であり, 0.05 ng から 1 ng の範囲で直線性が認められた。

2. カラムクロマトグラフィー

カラム充てん剤としてフロリジル, 活性炭, シリカゲルについて検討した。

フロリジル 20 g を用いて調製したフロリジルカラムに, TPN 溶液 (A) 1 ml を加え回収率を検討した。溶出溶媒としてエーテル, 酢酸エチルおよびアセトンを用いた場合, 回収率はそれぞれ 18%, 23% および 31% で, 良好な結果は得られなかった。

活性炭: アビセル (1:10) の混合物 3 g を用いて調製した活性炭カラムについて回収率を検討したが, エーテル, 酢酸エチル, *n*-ヘキサンおよびアセトン 200 ml では TPN は全く溶出されず, ベンゼンでのみ 83% の回収率が得られた。

シリカゲルについて, 実験方法に従って TPN 溶液 (A) 1 ml をカラムに加え, 5% エーテル含有 *n*-ヘキサンで溶出すると回収率は 94% であった。この時の溶出パターンは Fig. 2 に示すとおりであり, TPN は最初の 50 ml 中には全く溶出されず, 120 ml までに溶出されることがわかった。同様の条件でミカンおよびホウレンソウのアセトン抽出液について, クリーンア

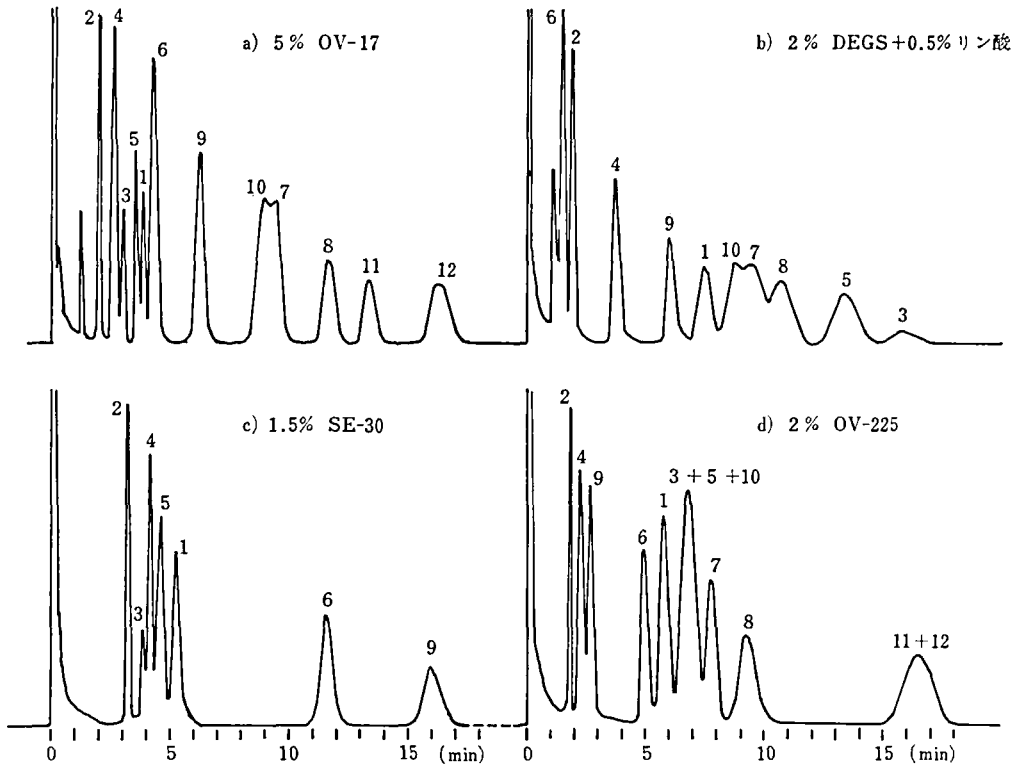


Fig. 1. Gas chromatogram of TPN and organochlorine pesticides

1. TPN 2. α -BHC 3. β -BHC 4. γ -BHC 5. δ -BHC 6. Aldrin 7. Dieldrin 8. Endrin
 9. Heptachlor epoxide 10. pp'-DDE 11. pp'-DDD 12. pp'-DDT
 added 1: 0.15 ng 2~12: 0.075 ng

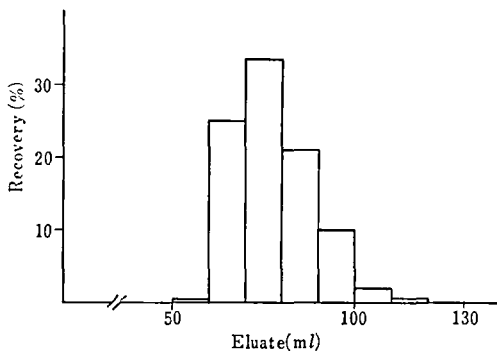


Fig. 2. Elution pattern of TPN in silica gel column chromatography

5% ether in *n*-hexane was used as eluting solvent and each fraction was collected 10 ml of the eluate.

ップを検討したところ、黄色色素類は最初の 50 ml 中に殆んど溶出され、一方緑色色素類等は次の 150 ml

中にも全く溶出されなかった。また 50~150 ml のフラクションはガスクロにおいてベースラインが安定し、妨害ピークも存在しないことを認めた。

3. 抽出

白菜のホモジネート 100 g に TPN 溶液(B) 1 ml を添加して各種溶媒で抽出したところ、アセトン-*n*-ヘキサンで 44.3% の回収率にすぎなかった。

酸の添加が回収率に好影響を与えることが知られている³⁾ので、リン酸 (85%) 5 ml, 塩酸 (35%) 13 ml, 硫酸 (96%) 4.5 ml をそれぞれに加えたところ、回収率は 83%, 58% および 75% を示した。リン酸が回収率、再現性ともよく、以下の実験においてリン酸 5 ml を添加することとした。

4. 添加回収実験

以上の実験結果より Fig. 3 に示す分析法を考案し、その妥当性を検討するため 9 種の農作物を用いて TPN の添加回収実験を行なった。

Table 1 に示すように回収率はハウレンソウを除

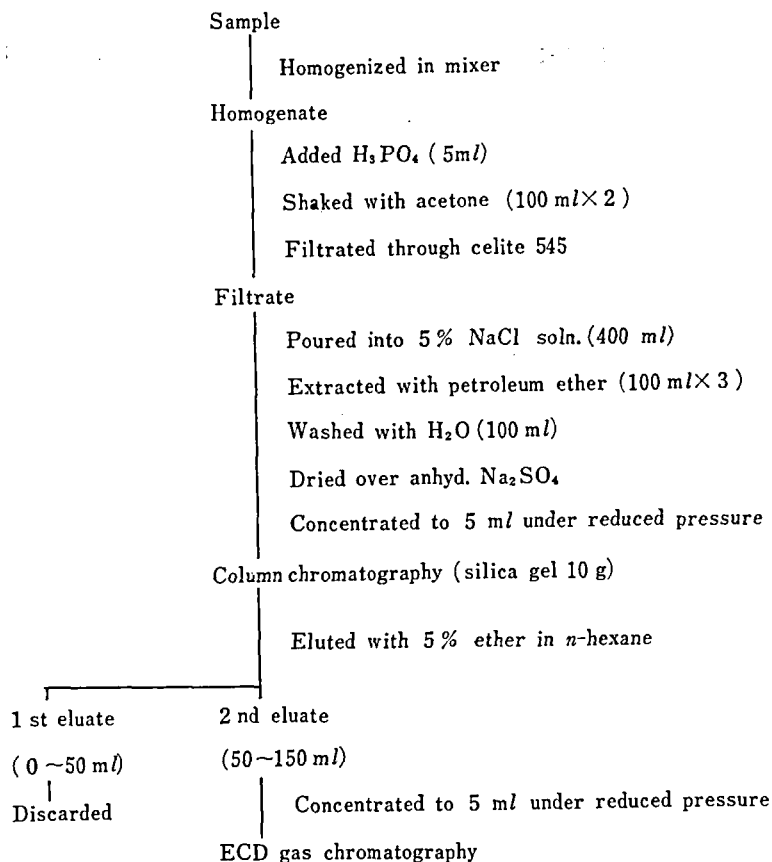


Fig. 3. Determination of TPN in agricultural products

Table 1. Percent recovery of TPN added to agricultural products

Sample	Weight (g)	Added (ppm)	Recovery (%)
Apple	100	0.01	82.5
Mandarin orange	100	0.01	70.5
Cucumber	100	0.01	94.3
Tomato	100	0.01	89.3
Chinese cabbage	100	0.01	85.5
Spinach	100	0.01	42.5
Potato	100	0.01	68.8
Peanut	40	0.025	62.0
Green tea	20	0.05	84.0

each value is the average of 3 or 4 samples

き、落花生の 62.0% からキュウリの 94.3% の範囲にあり、ほぼ満足すべき結果が得られた。

考 察

TPN は著者らが今回検討した 4 種のガスクロカラムで 11 種の有機塩素農薬と分離が可能であったので、有機塩素農薬との同時分析を試みたが、フロリジルカラムからの回収率が溶出力のかなり強いアセトンを用いても悪く、又この条件では殆んど精製の目的を達することができないので、同時分析は困難であると判断した。

TPN の活性炭クロマトグラフィーについては McLeod ら⁶⁾の報告があり、ベンゼン 200 ml 溶出液中に 75% の回収率で得られている。しかしながら TPN はベンゼン系溶媒中で容易に光化学反応をおこすことが見出された⁷⁾ので、ベンゼン系の溶媒はさけることが望ましい。そこで活性炭カラムに対する他の溶媒の適応について検討したが、結果はベンゼンでのみ TPN が溶出されることが示され回収率も McLeod らの結果とよく一致した。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーについては Suzuki ら⁸⁾の報告があるがこれは製剤分析を対象としたものであり、これをそのまま残留分析に適用することは出来ない。またこれはベンゼンを使用しており好ましくない。今回著者らが検討した条件下では、最初の 50 ml 中には TPN が全く溶出されないことから、まず 5% エーテル含有 *n*-ヘキサン 50 ml で色素等の共雑物を除き、次の溶出液 100 ml を分析に供することとした。この場合試料によっては若干の着色が認められる場合もあるが、著者らの検討した範囲ではガスクロマトグラフィーでは殆んど問題とならなかった。またシリカゲル溶出液が着色した場合、活性炭カラムを通すことにより無色の検液を得ることが可能である。しかし、ベンゼンを使用するので上記理由により、遮光を行なうなど十分に光の影響を考慮すべきであらう。

抽出時溶媒のみでは回収率が悪く、リン酸を加えることにより改善することができた。しかしリン酸を加えた抽出液では転溶時エマルジョンがおこりやすく分離が悪いので、抽出時の抽出液の回収は傾斜または遠心分離を使わずろ過により粒子の混入をさけ、又転溶溶媒を *n*-ヘキサンから石油エーテルに変更することにより改善することができ回収率も上昇した。

TPN の添加回収実験から、ホウレンソウを除き、一応農作物中 TPN の残留分析法として用い得ることが示された。ホウレンソウの回収率が低い理由は明らかではないが、今後さらに検討が必要である。

結 論

農作物中に残留する TPN の分析法について検討を行なった。

1. TPN のガスクロマトグラフィーについて検討し、5% OV-17, 2% DEGS+0.5% リン酸, 1.5% SE-30, 2% OV-225 で有機塩素農薬との分離が可能であることがわかった。

2. シリカゲルカラムにおいて、5% エーテル含有 *n*-ヘキサンで溶出すると、TPN は 50~150 ml の画分に溶出され、色素等の共雑物の除去もほぼ良好であった。

3. フロリジルカラムでは TPN の回収率が悪く不適である。

4. 活性炭カラムでは、TPN はベンゼンによってのみ溶出されるが、その際遮光に十分気をつける必要がある。

5. 抽出時リン酸を添加することにより回収率が改善された。

6. 野菜、果実等について添加回収実験を行なったところほぼ満足すべき結果が得られ、本法が残留農薬分析法として十分実用に供しうると結論された。

文 献

- 1) J.F. Thompson et al.: *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 52, 1263 (1969)
- 2) K. Beyermann et al.: *J. Anal. Chem.*, 265, 4 (1973)
- 3) 佐藤元昭：残留農薬対策委員会へ報告 (1971)
- 4) 加藤誠哉：残留農薬対策委員会へ報告 (1973)
- 5) 武田明治ら：衛生試験報, 89, 43 (1971)
- 6) H.A. McLeod et al.: *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 50, 1216 (1967)
- 7) 寺西葉子ら：日本食品衛生学会第 29 回学術講演会 (1975)
- 8) K. Suzuki et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 37, 1959 (1973)

魚肉ソーセージ製造工場における環境中の 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸アミド (AF-2) について

酒井綾子・原田基夫・谷村顕雄

Air Pollution with 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) Acrylamide in Fish Sausage Factory

Ayako SAKAI, Motoo HARADA and Akio TANIMURA

2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (FF) was prohibited from being used for foodstuffs in September, 1974. Before this period, the possibility was that FF drifted with the dust during the manufacturing of foodstuffs where the FF powder was intermixed with other food additives, which was inhaled by the workers engaged in this industry. We attempted to measure the amount of FF in the drifting dust during the manufacturing of fish sausage.

The dust was collected into glass fiber filter with an air sampler. FF was extracted with benzene and applied to silica gel column. The eluate was evaporated to dryness under reduced pressure, the residue was dissolved in 1 ml of methanol and FF was analyzed qualitatively by TLC and determined by the colorimetric method in the "Standard methods of Analysis for Hygienic Chemists" authorized by the Pharmaceutical Society of Japan.

FF was detected in the concentration of 11.3~17.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ in the blending room of food additives and 2.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ near the mixer of fish meat and food additives in the sausage manufacturing room.

(Received May 31, 1975)

まえがき

2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル酸アミド (AF-2, フリルフラマイド, FF) の安全性に疑問が持たれ^{1,2)}, 再検討が行われた結果, マウスの前胃に腫瘍を発生することが認められたため, 昭和49年9月, 食品添加物の指定が解除された。しかし, 昭和40年以降49年に至るまで, FF は粉体 (50倍散として市販) のまま他の食品添加物とともにミキサーで混和されて食品に添加されることが多かった。このため FF は, 他の食品添加物や粉塵とともに空気中に浮遊し, 従業員が FF を吸入する恐れが少なくなかった。従業員の健康管理上の問題から作業環境中の FF について厚生省から調査依頼があり, 魚肉ソーセージ製造工場の空気中に含まれる FF の分析を行った。

過去に, 食品工場における空気中の FF の分析を行った例はみられないので, 定性・定量法についても若干の検討を行ったのであわせて報告する。

実験方法

1. 試薬

- ①ガラス繊維フィルター：東洋ろ紙製 GB-100R
- ②カラム用シリカゲル：ワコーゲル C-200
- ③2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル酸アミド薄層クロマトグラフィー用標準溶液：2-(2-フ

リル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル酸アミド (*trans*-FF) 10 mg をメタノール 10 ml にとかしたものの。

- ④薄層クロマトグラフィー用シリカゲル：キーゼルゲル H

- ⑤展開溶媒
 - 1) クロロホルム：エタノール (19 : 1)³⁾
 - 2) クロロホルム：メタノール (19 : 1)
 - 3) ベンゼン：アセトン (7 : 3)⁴⁾
 - 4) エーテル：アセトン (3 : 2)⁵⁾

- ⑥スルファミン溶液：スルファミン (日局) 2 g を 20% HCl に溶かし, 100 ml とする。

- ⑦2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル酸アミド定量用標準溶液：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル酸アミド 50 mg を精密にはかり, メタノールを加えて溶かし正確に 100 ml とする。その 10 ml を正確にとり, メタノールを加えて正確に 100 ml とする。

2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル酸アミド標準溶液 1 ml = 50 μg $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_5\text{N}_2$

2. 装置

- ①High-volume air sampler: Vacum pump, 柴田製 2 型
- ②分光光度計：島津分光光度計 UV-200

3. 試料の採取方法

Fig. 1 に示した2つの位置に 1.5 m の高さに設置

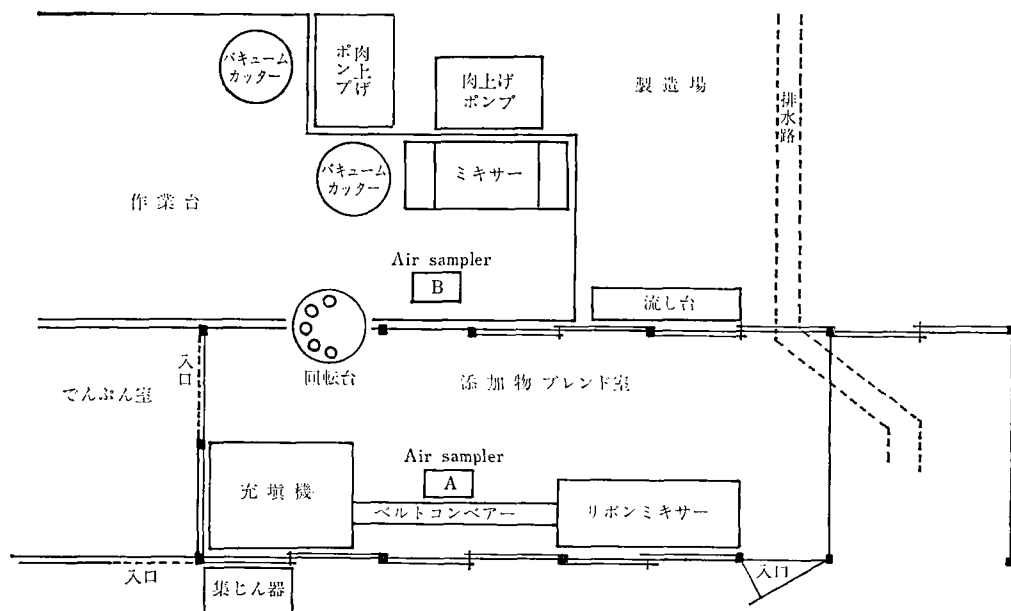


Fig. 1

した High-volume air sampler を用い、吸引流量を 600 l/min とし、浮遊粉塵とともに FF をガラス繊維フィルター (直径 10 mm) 上に約 1 時間にわたり捕集した。但し、吸引流量は、測定時間の経過につれてフィルターの目づまりのため低下した。

なお、FF とその他の添加物はリボンミキサーで攪拌混和した後、ベルトコンベアーで、充填機に移し 1 回分づつポリバケツに分取し、回転台によって、作業台上のミキサーに入れ、魚肉と練り合わされる。

4. 試験溶液の調製

浮遊粉塵を捕集したろ紙を細切し、水 25 ml を加えてホモジナイズしたのち、水 15 ml を用いて遠沈管にうつす。ベンゼン 30 ml を加えてよく振とうし、遠沈 (3000 rpm 5 min) した後、ベンゼン層を採取する。ベンゼン 20 ml を用いて同様に 4 回抽出を行い⁶⁾、ベンゼン層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過して無水硫酸ナトリウムを除く。この液をシリカゲルカラム (1×10 cm) に通し、さらにベンゼン 30 ml を流し、エーテル 70 ml を用いて溶出する。エーテル溶出液を室温で減圧乾固し、メタノール 1 ml にとかし試験溶液とする。容器およびカラム管はかつ色のものを用いるか、アルミ箔で遮光したものを用いた。

5. 定性法 (TLC 法)

薄層板は、キーゼルゲル H を常法により 250 μ の厚さに塗布し、110° で 30 分間乾燥して用いた。この薄

層の下端より 2 cm のところに試験溶液および TLC 用標準溶液をそれぞれスポットし、展開溶媒で約 15 cm 展開後、風乾し、薄層クロマトグラムを自然光および紫外線 (3650 Å) 下で観察し、試験溶液および標準溶液より得られたスポットの色および R_f より判定する。FF は自然光下で黄色、紫外線下でけい光を帯びた黄橙色の特有のスポットを示す。

6. 定量法

衛生試験法注解⁷⁾に準じて行った。すなわち、25 ml のかつ色メスフラスコに正確に試験溶液 0.5 ml をとり、メタノール 7 ml、20% 水酸化ナトリウム溶液 1 ml を加え、50~55° の水浴中で約 50 分間加温したのち、氷冷する。これにスルファミン溶液 2 ml を加え、これを氷冷しながら 15 分間放置する。つぎにこれを取り出し、0.1% 塩酸ナフチルエチレンジアミン溶液 1 ml を加え、室温で 30 分間放置したのち、メタノールを加えて正確に 25 ml とし、545 m μ における吸光度を測定した。また、水 40 ml について試験溶液の調製の項と同様に操作し、得られたメタノール溶液について呈色操作を行い、これの測定値を試料についての測定値からさし引く。別に、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸アミド定量用標準溶液を用いて検量線を作製する。対照液は、いずれの場合もメタノールについて呈色操作を行ったものを用いる。

結果および考察

1. 試験溶液の調製

衛生試験法注解では、飲食物中の FF を対象としているため、定性法、定量法で、それぞれ異った試験溶液の調製方法を採用している。しかし、空気中の FF を定量する場合には、浮遊粉塵を捕集した1枚のフィルターを定性用、定量用に均等に分割することは、捕集した粉塵のはく離、その他の問題があって好ましくない。操作の簡易化のためから定性法、定量法の試験溶液の調製法を同一にする必要があるため、前述のように竹下らの方法⁹⁾に若干の改良を加えた。竹下らは FF をシリカゲルカラムに通す操作において、FF はエーテル 40 ml で溶出される事を確認し、エーテル量を 50 ml としているが、われわれの実験ではエーテル 65 ml を必要としたので 70 ml のエーテルを溶出液として用いた。衛生試験法注解も定性法の試験溶液の調製方法⁹⁾は、竹下らの方法とほぼ同様の方法を用いている。

2. 定性

従来、FF の TLC に使用されてきたところの展開溶媒 3) および 4) は、自然光下で黄色、紫外線下で強い黄緑色および青色のケイ光を有する妨害スポット

との分離が悪く不適当であった。また食品添加物の FF は *trans* 体であるが、試験溶液からは *trans* 体の他に *cis* 体と考えられるスポットが検出される。これは、*trans*-FF は光により容易に *cis*-FF に変わるため⁸⁾、空中に飛散した際や分析中に *cis* 体を生じたものと考えられるが、特に、この *cis* 体のスポットが妨害スポットに重なり、妨害物質のケイ光が非常に強いため検出が困難であった。

そこで、種々の溶媒を検討したところ、展開溶媒 1) または 2) がすぐれていた。

展開溶媒 2) では *cis*-FF が *trans*-FF の下方に検出され、展開溶媒 1) では *cis*-FF と *trans*-FF が1つのスポットとして検出される。いずれの場合でも妨害スポットとの分離は可能であった (Fig. 2)。

TLC 上の検出限界は自然光下で 0.1 μ g、紫外線下で 0.02 μ g であった。

なお、TLC の結果、Table 2 に示した各時間帯に捕集した粉塵すべてについて FF はプラスであった。

3. 定量

FF の定量は、380 m μ 付近の吸収極大の吸光度を測定する方法も報告されている⁹⁾が、380 m μ (エーテル) は *trans*-FF の吸収極大であり、*cis*-FF の場合は吸収極大が長波長に移動し、吸光度も大きくなるので

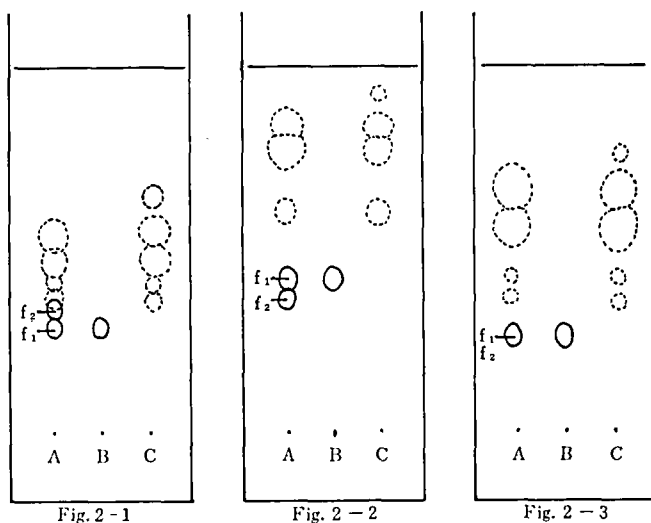


Fig. 2. TLC of 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide extracted from glass fiber filter
A: Extract from glass fiber filter B: *trans*-FF standard C: Extract from food additive mixture I (Table 1) without FF

Absorbent: Kieselgel H (250 μ)

Solvents: Fig. 2-1; Benzene: Acetone 7:3, Fig. 2-2; Chloroform: Methanol 19:1, Fig. 2-3; Chloroform: Ethanol 19:1

f₁; Spot of *trans*-FF, f₂; Spot of *cis*-FF

Detection: UV Lamp (3650Å)

Table 1. Food additives mixed at the sampling place

Food additives mixture I		Food additives mixture II	
Sodium chloride	25%	Sugar	63%
Glucose	17	Spice	3
Sugar	22	Succinic acid	2
Spice	2	Dihydrogen pyrophosphate	2
Dihydrogen pyrophosphate	2	Monosodium L-glutamate	16
FF* (2%)	2	Onion powder	1
Monosodium L-glutamate	9	Garlic powder	0.3
Succinic acid	0.6	Plant protein	14
Pepper	2		
L-Ascorbic acid	2		
Sodium polyphosphate	1.5		
Sodium pyrophosphate	1.5		
Calcium Carbonate	6		
Seasoning	2		
Sorbic acid	2		

*FF: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

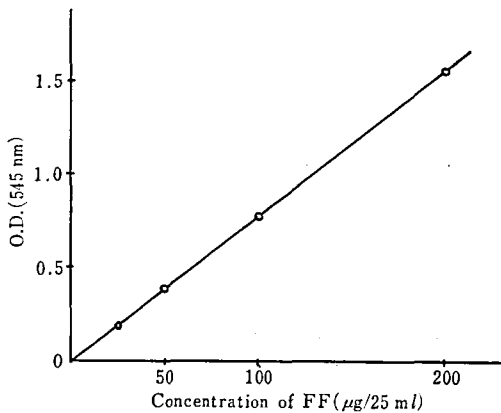


Fig. 3. Calibration curve of 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide by the colorimetric method

試験溶液中に *cis*-FF が共存するときは適当な方法ではない。本法によれば, *trans*-FF, *cis*-FF とも水酸化ナトリウム処理により同率 (95.8%) で亜硝酸イオンを遊離し, 定量することが可能である⁹⁾。

検量線は, 定量に用いた範囲内 (25~200 μg/25ml) において直線であった (Fig. 3)。

また, Table 1 に示したその他の添加物について, Table 1 の処方にしたがって作製し, その 500 mg を用いて試験溶液の調製および呈色操作を行い, 妨害の

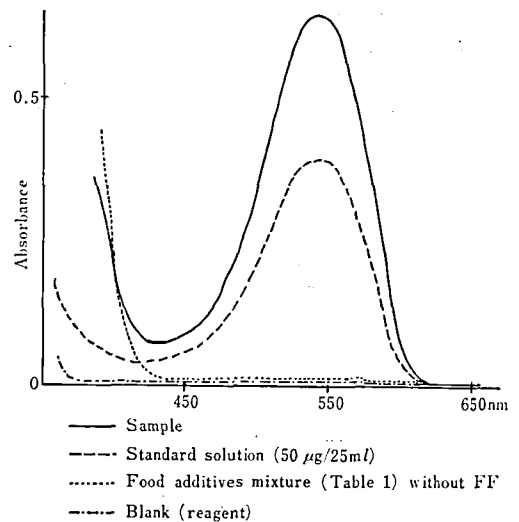


Fig. 4. Absorption spectra after color development

有無を調べたところ, 545 mμ 付近に吸収は認められなかった。採取した試料から得た呈色液の吸収曲線は, 標準溶液から得た呈色液の吸収曲線とよく一致し (Fig. 4), 本法は, この実験の定量法として満足し得るものであることがわかった。

なお, 本法による回収率は, FF 100 μg 添加で 95% 以上, 200 μg 添加で 98% 以上であった。

Table 2. The amount of 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide in the air during the manufacturing of fish sausage

Sample No.	Date	Time	Spot	Dust in air	FF in air	Blending time	
						Food additives mixture I	Food additives mixture II
1	Jan. 16th	13:30~14:30	A	17.3 mg/m ³	11.8 µg/m ³	30 min.	30 min.
2	17th	7:34~8:34	A	17.7	2.8	0	60
3	17th	8:34~9:34	A	28.9	11.5	20	40
4	17th	9:35~10:25	A	29.3	11.3	20	30
5	17th	10:30~11:30	A	20.4	17.3	50	10
6	17th	11:35~15:35	B	5.8	2.9		

4. 工場内の空気中の FF

測定結果を Table 2 に示す。

添加物ブレンド室では Table 1 に示したような 2 種の処方への添加物を 20~30 分おきにブレンドしており、II の処方には FF は含まれていない。Table 2 の Blending time とは、Sampling 時間中に各々の処方への添加物を混合した時間をさす。

Sample No. 2 においては FF を含む処方の添加物を全く混合しておらず、しかも工場の始業時であるにもかかわらず、FF が若干検出されているが、これは、機械の振動により、床等に推積していた FF がふたたび飛散したものである。

人の 1 日の呼吸量は約 20m³ とされているが、8 時間労働として、測定結果をもとに計算すると、この工場のブレンド室で働く従業員は毎日約 70~80 µg の FF を吸入していたことになる。吸入による慢性毒性試験は今まで行われていない。経口的に摂取した場合には、特に毒性発現の量とは考えられないが²⁾、吸入の場合には局所に対する作用を含めて十分に注意を要する量であると考えられる。

本実験は、たまたま FF について行ったが、食品添加物を粉体のまま使用することは、本実験からも明らかのように FF に限らず、食品添加物が空中に飛散

し、従業員がそれを吸入する可能性がある。使用する食品添加物によっては、労働衛生上留意すべき問題であり、今後は、他の食品添加物についても注意する必要があると考えられる。

最後に、本実験に御協力いただいた環境衛生化学部山手昇室長、衛生微生物部栗栖弘光主任研究官ならびに食品添加物部一同に感謝いたします。

文 献

- 1) Frederick J. de Serres: *Mutat. Res.*, 26 (1), 1 (1974)
- 2) H. Takizawa, M. Hozumi, T. Sugimura, G.T. Bryan: *J. Nat. Cancer Inst.*, 54 (2), 487 (1975)
- 3) 酒井綾子, 原田基夫, 谷村顕雄: 食衛誌, 16, 123 (1975)
- 4) 日本薬学会編“衛生試験法注解” p. 218 (1973) 金原出版
- 5) 菰田太郎, 竹下隆三: 衛生化学, 13, 201 (1967)
- 6) 竹下隆三, 坂上米次, 樋口隼男: 食衛誌, 8, 127 (1967)
- 7) 日本薬学会編“衛生試験法注解” p. 219 (1973) 金原出版
- 8) 菅野三郎, 詫摩真澄, 渡辺重信, 村井絢子: 食衛誌, 8, 253 (1967)

輸入もやしめめの中のジニトロソペンタメチレンテトラミン (D.P.T.) および亜リン酸の検索

慶田雅洋・金田吉男・伊藤蒼志男・外海泰秀

Detection of Dinitrosopentamethylenetetramine (D.P.T.) and Phosphites in Imported Bean Sprouts

Masahiro IWAIDA, Yoshio KANEDA, Yoshio IRO and Yasuhide TONOGAI

In the early morning of April 21 in 1974, there happened a fire on a Norwegian ship and, after the inquiry into the cause of fire, it became evident that a polyethylene bottle of about 20 litre filled with phosphorous acid was broken by the rolling and that the content came to contact with dinitrosopentamethylenetetramine (D.P.T.) which lead to an outbreak of fire. After extinguishment of the fire, there arose another problem that the bean sprouts loaded on the lower deck might have been contaminated with either D.P.T. or phosphorous acid.

D.P.T. is produced by the nitrosation of hexamin and usually occurs as pale yellowish powder; it reacts exothermically to burn in contact with acid.

1. Detection of phosphorous acid: Potassium permanganate titration was carried out on the filtrate of bean sprout homogenate (equal weight mixture of bean sprout and water). Since no reduction of chameleon solution was observed, it was assumed that neither phosphorous acid nor phosphite was present in the sprout. There still remained a possibility, however, that the contaminated phosphorous acid might have been oxidized to phosphate. Accordingly, in the next place, total phosphorus contents of the suspected bean sprouts (Lot A, B and C) were compared with the control. Results are as shown in Table 1. No difference was found among the phosphorus contents of Lots A, B and control, while a rather higher value was obtained in Lot C. It cannot, however, be deduced that only by the difference of $11.9 \mu\text{g P}_2\text{O}_5/\text{g}$ Lot C had been polluted with phosphorous acid.

2. Pursuit for residual D.P.T.: It is impossible to determine itself by chemical analysis. It can be expected, however, that formaldehyde is produced quantitatively from D.P.T. when it is heated in water in the presence of acid. Aliquot of D.P.T. solution was steam-distilled in the presence of 1 ml of 20% phosphoric acid, then the distillate was subjected to the determination of formaldehyde by the acetylacetone method. Five moles of formaldehyde are to be produced theoretically from 1 mole of D.P.T., and the results suggested that 96.3% of formaldehyde was recovered by steam distillation. In the next place, the D.P.T. contents of the bean sprouts were measured by the formaldehyde index, the data being shown in Table 2. Chemically observed, formaldehyde equivalent to $1.2\sim 2.5 \mu\text{g/g}$ was present in the polluted sprouts, but at present no toxicological data are available on D.P.T. We think that the toxicological evaluation of D.P.T. could be taken up as the problem of formaldehyde since the residual D.P.T. is sure to be decomposed to formaldehyde during cooking. Utmost $2.5 \mu\text{g/g}$ of formaldehyde present in the sprout is by no means hazardous to human health.

(Received May 31, 1975)

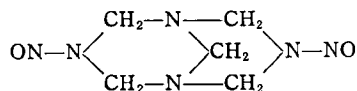
ま え が き

昭和49年4月21日午前5時30分頃、四国足摺岬沖にて、ノルウェー船ハルボグ号が1番ハッチより火災を発生し、これは船内消火作業により約5分後に鎮静したが、出火原因が不明であったので、別府湾に寄港後、4月22日16時門司港8号岸壁に接岸させ、関門労働安全委員会が関係者立会の下に調査した結果次のことが明らかになった。

50 kg ファイバードラム入り (中味はポリ袋入り)

ジニトロソペンタメチレンテトラミン (D.P.T.) (商品名 Cellmic-A, 三協化成株式会社製) と亜リン酸 (大道製薬製, 商品名 T.T.P.) が1番ハッチ (アッパーツインデッキ) に混載されていた。

D.P.T. ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_2$) はヘキサミンをニトロソ化して得られるものであって下記の構造を有する。



淡黄色の粉末であって、ゴム、ビニルなどの起泡発泡

剤として用いられる。火をつけると燃え、酸と接触すると熱を発生して発火するので、消防準危険物第5類に指定され、貯蔵ならびに取扱いは注意を要するものとされている。たまたまローリング等により荷崩れし20lの亜リン酸ポリビん容器が破損し、D.P.T.と接触したため出火したものと推定される。

以上をもって火災調査は終了したが、ロワーデッキに多量の麻袋入りもやしめ（タイ国産ブラックマップ）が搭載されていたため、本品が両薬品によって汚染された疑いが生じ、その検出を依頼されたので、その試験結果についてここに報告する。

実験の部

1. 亜リン酸の検出

もやし豆 50gに水 50mlを加え、ときどき振り混ぜながら30分間放置した後、ろ過して後にろ液を試験溶液とした。

JIS 試薬の亜リン酸の試験法¹⁾に従って過マンガン酸カリウムの消費量をみたが全く消費されないことから、亜リン酸は空気酸化されてすでにリン酸になっているものと推定した。試験溶液の1滴をろ紙にスポットし、モリブデンブルー法で発色させ、リン酸の存在することを確認した。

次に、試験溶液 1mlに水 14ml、5N過塩素酸 5ml、5% モリブデン酸アンモニウム溶液 5mlを加えた後、メチルイソブチルケトン 10mlと振り混ぜてリン酸を転溶させ、原子吸光光度法でリン含量を測定し、リン酸 (P_2O_5) として示した。船内事故品3ロットおよび同種のまめの無事故対照品についての測定結果は Table 1 に示す通りである。

ロットAおよびBの豆のリン含量は対照にくらべてほとんど差がなく、Cにおいては対照よりやや高い値がえられたが、この豆のリン含量の差をもってもやし豆が亜リン酸によって汚染されたと考えることはできない。

Table 1. Phosphorus contents of imported been sprouts

	P content ($\mu\text{g } P_2O_5/\text{g}$)
Lot A	8.7
Lot B	7.0
Lot C	18.7
Control	6.8

Note: Lots A, B and C were suspected to be contaminated with phosphites while on board on the occasion of fire at sea.

2. ジニトロソペンタメチレンテトラミンの検出

本品はそのままの形で定量することは極めて困難であるが、酸の存在下で加熱すると、たとえば酢酸酸性の場合には $(\text{CH}_2)_5\text{N}_4(\text{NO})_2 + 4\text{CH}_3\text{COOH} + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 5\text{HCHO} + \text{CH}_3\text{COONH}_4 + \text{N}_2\text{O}_5(1)$ の反応によりホルムアルデヒドを生成するはずであるので、これを指標として D.P.T. 含量を測定することができる。

すなわち、D.P.T. の一定量を取り、水 10ml、20% リン酸 1mlを加えて水蒸気蒸留し、受器には水 10mlを入れ、全量を 200ml になるまで留液を採取した後、その 5ml をとり、アセチルアセトン法²⁾により比色定量した場合、および D.P.T. 水溶液を直接アセチルアセトン法により比色定量した場合について比較した結果は Fig. 1 に示す通りである。ホルムアルデヒド水溶液について発色した結果も参考のために図示した。(アセチルアセトン溶液は酢酸酸性であり、これを添加後、煮沸水中で10分間加熱する操作があるので D.P.T. が分解し、ホルムアルデヒドを生成するには十分な条件であると考えた。) 本図から、水蒸気蒸留の際 D.P.T. より発生したホルムデヒドの損失は全

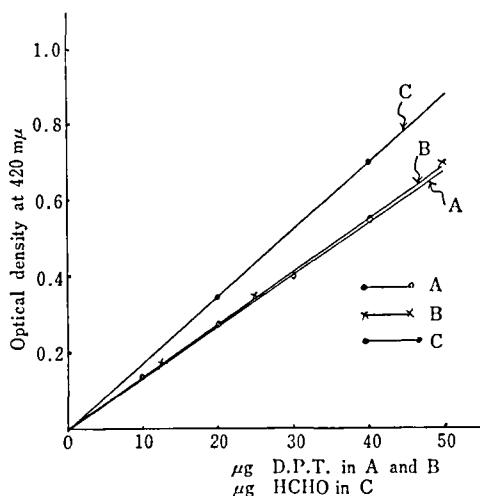


Fig. 1. Formation of formaldehyde from dinitroso pentamethylenetetramine (D.P.T.)

Note: Formaldehyde was determined by acetylacetone method. Abbreviation A: A certain quantity of D.P.T. was measured accurately and steam-distilled in the presence of phosphoric acid and the amount of HCHO in aliquot of the distillate was measured.

B: D.P.T. was measured directly without distillation.

C: Formaldehyde standard solution.

Table 2. Formaldehyde content of imported bean sprouts

Sample	Formaldehyde ($\mu\text{g/g}$)	Dinitrosopenta- methylenetetramine ($\mu\text{g/g}$)*
Lot A	1.5	1.2
Lot B	1.7	1.5
Lot C	2.5	2.5
Control	0.5	—

* Calculated assuming that the differences of amount of formaldehyde between Lot A~C and control were derived from D.P.T.

くないことが知られる。

次に D.P.T. よりのホルムアルデヒドの発生について化学量論的に考察する。たとえば、D.P.T. (m.w. 186) 30 μg を採取したとすると、これは 160 p mole に相当するので、これから発生するホルムアルデヒドの理論値は(1)式より 800 p mole となる。ところが、Fig. 1 より実際に発生したホルムアルデヒド量は 23 μg (770 p mole) であるので、発生率は $(770/800) \times 100 = 96.3\%$ であることが知られ、ホルムアルデヒドを指標として、D.P.T. をほぼ定量的に測定しうることが確かめられた。

以上の事実を基礎にして、もやし豆中のホルムアルデヒドの定量に着手した。すなわち、試料 50 g に水 50 ml, 20% リン酸溶液 1 ml を加えて水蒸気蒸留し、

留液 200 ml を集め、以下アセチルアセトン法によりホルムアルデヒドを測定した結果は Table 2 に示す通りである。

対照に比較してロット A~C ではホルムアルデヒド含量がやや高いことが知られる。対照との差がすべて D.P.T. によるものと考えてホルムアルデヒドを D.P.T. に換算すると Table 2 右欄の通りである。1.2~2.5 ppm の D.P.T. が含まれていることになる。

D.P.T. の毒性に関しては参考資料はないので判定できないが、実際問題として D.P.T. が残っていたとしても調理した際にはホルムアルデヒドになるのであるから、ホルムアルデヒドの毒性として考えた方がよいものと思われる。食品中には天然のホルムアルデヒドが生しいだけで 0~24 ppm, 乾燥しいだけで 100~230 ppm 存在することが報告されており⁴⁾、これはとくに健康を害う虞のないものとして許可されており、これと比較するともやし豆中のホルムアルデヒド量は問題にならない程僅少であると判定される。

文 献

- 1) JIS K 8063 (1961)
- 2) 外海泰秀, 田中清子: 食衛誌, 15, 331 (1974)
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法注解 p. 225 (1973) 金原出版
- 4) 矢田光子, 今井田雅示, 小林太郎: 食衛誌, 11, 171 (1970)

毒物劇物の衛生化学的研究 (第 1 報)

四エチル鉛の安全処理に関する研究

佐谷戸安好・中室克彦・辻楠雄・外村正治

Hygienic Chemical Studies on Violent Poisons. I. Studies on the Treatment of Tetraethyllead

Yasuyoshi SAYATO, Katsuhiko NAKAMURO, Kusuo TSUJI and Masaharu TONOMURA

Tetraethyllead is poison, but used as antinock agent of gasoline. Recently, according to increasing production of gasoline, the transportation on sea and by land of tetraethyllead is increased. And then it is feared that an accidental poisoning is happened caused by the transportation.

The safety treatment at accident of tetraethyllead is carried out with potassium permanganate.

(1) 5% potassium permanganate solution is available as decomposition reagent of tetraethyllead.

(2) The decomposition of tetraethyllead with 5% potassium permanganate solution is more accelerated in the presence of 0.1% sulfuric acid.

(3) It is considered the safety treatment possibly that tetraethyllead is treated with potassium permanganate solution in the presence of 0.1% sulfuric acid, when silica gel is added for the purpose of prevention of diffusion.

(Received May 31, 1975)

緒 言

四エチル鉛は自動車のアンチノック剤として利用することが見出され、加鉛ガソリンとして実用化された。

また、四エチル鉛の毒性としては精神興奮を始めとする神経障害が知られている^{1,2)}。しかし、加鉛ガソリンは当初、四エチル鉛の毒性に関し認識されないままに製造され、製造工場で多くの中毒患者や死亡者の発生をみた^{3,4)}。このため、これら事故発生を契機として、四エチル鉛は昭和25年に「毒物および劇物取締法⁵⁾」の中で特定毒物に指定され、さらに昭和26年には「四エチル鉛等危害防止規制⁶⁾」が施行され、四エチル鉛の使用が規制されるに至った。

わが国において、四エチル鉛の製造工場は存在せず、現在では加鉛ガソリン製造のための添加時ならびに四エチル鉛の陸送または海上輸送時に発生を予想される漏洩事故に起因する中毒事故の発生が憂慮される。しかしながら、四エチル鉛の処理については経験的に過マンガン酸カリウム (KMnO₄) の添加や加熱および紫外線照射分解による方法が行なわれているにすぎず、その処理条件をはじめ効果など基礎的研究の報告はない。

そのため著者らは、これらの事故時の安全処理対策の必要性を考え、過マンガン酸カリウムによる四エチ

ル鉛分解処理時の処理条件、効果などの基礎的な研究を行い知見を得たので報告する。

実 験

1. 試薬

1) 四エチル鉛溶液; Ethyl Corporation 製, 組成: 四エチル鉛 18.23%, 二臭化エチレン 10.59%, 色素 0.01%, キシレン, *n*-ヘプタン 70.23%, 安定剤 0.01%, 鉛含有量 11.68%

2) ケロシン; 日本石油煉製

3) 1,3,5% 過マンガン酸カリウム溶液

4) シリカゲル; カラムクロマトグラフ用シリカゲル C-100, 40~100 mesh (和光純薬製)

5) 四エチル鉛標準溶液; 四エチル鉛溶液 30 ml にケロシン 400 ml を加え、これを四エチル鉛標準溶液とした。(1 ml=8150 μg Pb)

6) 鉛標準溶液; 硝酸鉛 159.8 mg を硝酸 1 ml を加えた水 50 ml に溶解し、水を加えて 100 ml とする。用時この溶液を 10 倍に希釈して鉛標準溶液とする。(1 ml=10 μg Pb)

2. 装置

1) 原子吸光光度計; 日立製 Model-207, 光源として日立製鉛測定用ホローカソードランプ使用

2) マグネチックスターラー; 東洋科学製ミニスターラー

3. 方法

1) 四エチル鉛の分解に関する検討

a) 四エチル鉛の分解における KMnO_4 濃度と反応時間について

200 ml のビーカーに四エチル鉛標準溶液 5 ml とクロシン 45 ml を加え、さらに 1, 3, 5% KMnO_4 溶液 50 ml をそれぞれに加えて、マグネチックスターラーを用いて同一撹拌条件下で、反応させ一定時間経過ごとに反応を停止し、反応溶液のクロシン層、水層を分離する。水層 1 ml を無機鉛測定用試験溶液とした。

b) 硫酸濃度の四エチル鉛分解に及ぼす影響について

200 ml のビーカーに四エチル鉛標準溶液 5 ml を取り、クロシン 45 ml を加え、5% KMnO_4 溶液 25 ml に、0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 および 3.0% 硫酸 25 ml をそれぞれに加えて、マグネチックスターラーを用いて、3, 1), a) と同一撹拌条件で1時間撹拌を行ったのち、反応を停止させ、反応溶液中のクロシン層および水層を分離する。ここに得られた水層1ml を無機鉛測定用溶液とした。

c) KMnO_4 処理時のシリカゲルの添加について

1 l のビーカーに四エチル鉛標準溶液 5 ml、クロシン 45 ml、シリカゲル 35 g の3成分に 5% KMnO_4 溶液 50 ml 加えたもの (A)、これら3成分にさらに 2.5% KMnO_4 溶液 50 ml 加えたもの (B)、さらに、3成分に 5% KMnO_4 溶液 25 ml、0.1% 硫酸 25 ml を加えたもの (C) を調製し、加えたシリカゲルを溶液に浸すようにガラス棒で静かに撹拌して、経時的に反応させ、一定時間後に水 50 ml を加えて撹拌したのち、水層約 5 ml を取り、その上澄液 1 ml を無機鉛測定用溶液とした。

2) 原子吸光光度法による鉛の定量

水溶液中無機鉛は 0.1 N 塩酸を用いて 10~50 $\mu\text{g Pb/ml}$ に希釈し、この溶液を原子吸光測定用試験溶液とした。

<測定条件>

測定波長; 2833Å

フレイム; 空気 13.0 l/min (1.8 kg/cm²)

アセチレン 3.0 l/min (0.5 kg/cm²)

ランプ電流; 10mA

スリット幅; 0.18 mm

実験結果

1. 四エチル鉛の分解における KMnO_4 濃度と反応時間について

四エチル鉛を分解させる目的で分解剤として

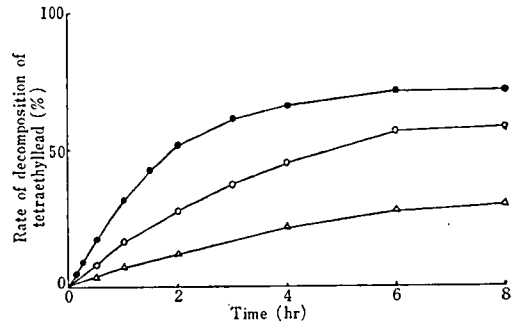


Fig. 1. Influence of potassium permanganate concentration on decomposition of tetraethyllead.

- : 5% potassium permanganate solution
- : 3% potassium permanganate solution
- △—△: 1% potassium permanganate solution

KMnO_4 を用い、各種濃度で KMnO_4 を作用させ、四エチル鉛の経時的な分解状態について検討を行った。すなわち、一定量の四エチル鉛標準溶液をクロシンを用い10倍に希釈したのち、それぞれ 1, 3, 5% KMnO_4 水溶液を加え、反応時間を30分から8時間まで経時的に変化させ、 KMnO_4 による四エチル鉛の分解率を測定した。これらの結果は Fig. 1 に示すごとくで、四エチル鉛の分解率はいずれの KMnO_4 濃度においても反応3時間までは分解率が急激に上昇するが、4時間以後は緩慢であることを示した。また、これら KMnO_4 作用濃度の中で 5% のものが最も良好な分解率を示し、四エチル鉛を 70% 分解することを示した。

2. 硫酸濃度の四エチル鉛分解に及ぼす影響について

四エチル鉛を分解するために KMnO_4 の 5% 水溶液が有効であることを認めたので、四エチル鉛溶液を KMnO_4 で分解する場合に、各種濃度の硫酸を添加し、一定時間反応させ、四エチル鉛の分解に与える影響について検討を行った。すなわち、Fig. 2 に示す結果を得た。硫酸濃度を 0~3% まで変化させたところ、四エチル鉛の分解は 0.1% 付近において、ほぼ 100% に近い最も良好な分解率を示し、0.1% 以上の硫酸濃度においては、徐々に分解率の低下を示し、1% 以上では 75% の四エチル鉛分解率を示すにすぎなかった。

3. KMnO_4 処理時のシリカゲルの添加について

ケロシン中の四エチル鉛を KMnO_4 で分解させる場合、水溶液、ケロシンとの接触面積が小さいために反応の進行が十分でないことが考えられる。そのため、シリカゲルを用いた場合、四エチル鉛と KMnO_4 の接触面積が大となることより、四エチル鉛分解率が增大するか否かについてパッチテストの形で検討を行った。すなわち、四エチル鉛の分解のために、5% KMnO_4 、0.1% 硫酸ならびにシリカゲルなどが有効な処理剤と考えられる。そのため、実際の事故時の処理を想定して静置した状態で反応させ検討を行った。四エチル鉛の分解を組成の異なる A, B, C の反応系を用いて四エチル鉛の経時的分解率を検討した。すなわち、Fig. 3 に示すごとくいずれの反応系においても反応時間の進行に伴って分解率は増大してゆくが、2~3時間でその反応の進行は緩徐となり、3時間後の分解率はA系列では 20%, B, C 系列では約 60% の四エチル鉛分解率を示した。また、これらシリカゲルを用いた、A, B, C 系列のいずれの反応においても、反応初期30分ですでに四エチル鉛の分解が 50% にも達し、反応初期において、分解の高いことを認めた。

考 察

著者らは四エチル鉛の車輛および船舶等による輸送時の事故により漏洩する結果生ずると考えられる付近住民への影響および環境汚染を最小限にいとめるため、四エチル鉛を安全かつ迅速に容易な方法で処理するための安全処理方法について基礎的な研究を行った。

四エチル鉛の分解剤として実際に入手容易な KMnO_4 を用いて、四エチル鉛の分解状態を経時的に検討したところ、Fig. 1 に示すごとく、飽和溶液に近い 5% KMnO_4 水溶液が処理濃度において最も良好な四エチル鉛分解率を示した。さらに、 KMnO_4 により四エチル鉛を分解する場合、硫酸酸性にすることにより、四エチル鉛が効果的に分解されることが考えられるため、硫酸の添加濃度を検討するに、Fig. 2 に示すように、0.1% 硫酸酸性 KMnO_4 溶液は処理 1 時間で四エチル鉛を完全に分解するものとする。

そこで、事故時の四エチル鉛を完全にしかも短時間で処理するため、四エチル鉛が漏洩した場合、この拡散を防ぐと共に KMnO_4 と四エチル鉛の接触面積を増大させ、安全にしかも短時間で処理するためシリカゲルを用いて検討を行った。すなわち、事故時の安全処理を考慮し、より実際的な状態を想定しパッチテストを行ったところ、Fig. 3 に示すごとく、いずれの処理条件においても大きな差がなく、シリカゲルを添加

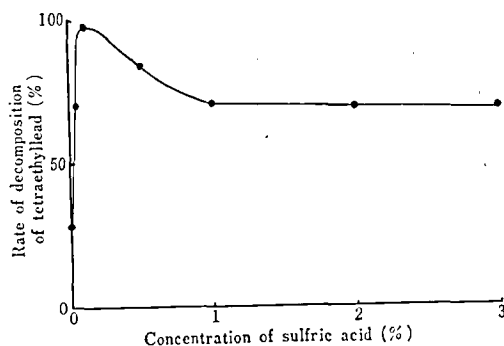


Fig. 2. Influence of sulfuric acid concentration on decomposition of tetraethyllead treated with potassium permanganate

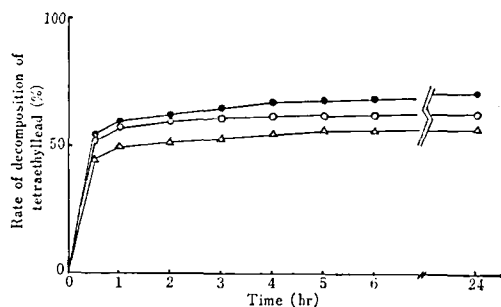


Fig. 3. Decomposition of tetraethyllead treated with potassium permanganate in the presence of silica gel

- : (A) treated with 5% potassium permanganate solution and Silica gel
- : (B) treated with 2.5% potassium permanganate solution and Silica gel
- △—△: (C) treated with 5% potassium permanganate solution, 0.1% sulfuric acid and Silica gel

し、0.1% 硫酸酸性の 5% KMnO_4 溶液を処理することにより、反応開始 30 分後には四エチル鉛が約 50% 分解されることを認め、実際の処理においては、この処理を繰返し行うことによって短時間に四エチル鉛を分解することが考えられ、本剤処理の有効なことを示したものとする。

これらの結果より、事故時に四エチル鉛が流出した場合、シリカゲルなどを用いることにより四エチル鉛の拡散を防ぎ、硫酸酸性 KMnO_4 溶液で繰返し処理することにより、四エチル鉛を完全に無害化し、処理しうるものとする。

結 論

以上の結果よりつぎのような結論を導きうるものとする。

1. 四エチル鉛の分解剤としては5% KMnO_4 が有効である。
2. 四エチル鉛の分解には0.1% 硫酸酸性下で KMnO_4 を処理することがより有効であることを認めた。
3. 四エチル鉛を0.1% 硫酸酸性5% KMnO_4 で分解する場合、四エチル鉛の拡散を防ぐために加えたシリカゲルにより、初期の四エチル鉛分解が増加することを認めた。

4. 事故時に流出した四エチル鉛をシリカゲル等を用いることにより、四エチル鉛の拡散を防止し、硫酸酸性 KMnO_4 溶液で繰返し処理することにより、四エチル鉛を完全に無害化し、処理しうるものとする。

文 献

- 1) 赤塚京治：医学のあゆみ，74，609（1970）
- 2) 倉恒匡徳：日本衛生学雑誌，7，110（1952）
- 3) 山賀岑朗：日本衛生学雑誌，12，55（1957）
- 4) 赤塚京治：労働科学，4，979（1940）
- 5) 「毒物および劇物取締法」昭和25年12月，法律第303号
- 6) 「四エチル鉛危害防止規則」昭和26年5月，労働省令第12号

毒物劇物の衛生化学的研究（第2報）
シアン化ナトリウムの安全処理に関する研究

佐谷戸安好・安藤正典・松井啓子・外村正治

Hygienic Chemical Studies on Violent Poisons. II
Studies on the Treatment of Sodium Cyanide

Yasuyoshi SAYATO, Masanori ANDO, Sachiko MATSUI and Masaharu TONOMURA

For the purpose of tentative treatment on unexpected accident, the fundamental treated method of sodium cyanide was investigated.

When sodium cyanide solution was treated with ferrous sulfate solution, in case of a small amount of ferrous sulfate, cyanide ion in the treated solution was remained. However, it was decreased by the excess of ferrous sulfate. While, cyanogen gas vaporized at the same time as treatment, therefore it was inhibited by adding of sodium hydroxide.

In these facts, when sodium cyanide was treated with the excess of ferrous sulfate and sodium hydroxide, cyanide ion was removed 99.8%, and cyanogen gas was inhibited less than 0.02%.

(Received May 31, 1975)

緒 言

シアン化ナトリウム (NaCN) は工業用原料として、高濃度 NaCN 溶液をタンクローリーなどによって陸送することも多く、そのため輸送時に突発的に漏洩などにより環境汚染事故の発生が憂慮される。そのため事故現場における応急的処理方法を検討することは衛生化学的立場から重要な問題である。排水中のシアン (CN) 処理については、アルカリ塩素法、オゾン酸化法を始め、各種の処理方法が行なわれているが、いずれも低濃度の CN 含有排水の処理を対象としたものであり、また排水処理に際して発生する CN gas の有害性から、工業用原料としての高濃度 NaCN 溶液によ

って生ずる事故時の処理方法としては利用し得ない欠点を有している。一方、高濃度 CN 排水の処理方法の1つとして、浅田ら¹⁾が報告した硫酸第1鉄 (FeSO_4) による処理方法が行なわれているが、本処理方法については、処理時発生する CN gas の抑制についての基本的な検討がなされていない。

著者らは事故発生時、 NaCN の被害を迅速かつ安全に現地で処理するため、 FeSO_4 により遊離 CN^- を CN 錯体として除去し、同時に CN gas 発生を抑制する方法の検討を行い、好結果を得たので報告する。

実 験

1. 試験溶液の調製

①NaCN 溶液: NaCN 49.00 g を水 1 l に溶かし、これを NaCN 原液とする。本原液は用時適当に希釈して実験に使用する。

②FeSO₄ 溶液: FeSO₄ 278.02 g をとり、0.1% 硫酸 (H₂SO₄) 1 l に溶解し、これを FeSO₄ 原液とする。本原液は用時適当に希釈して実験に使用する。

2. 装置

①NaCN の処理の検討は Fig. 1 の装置によって行った。

②CN⁻ の測定は CN イオン濃度計 (電気化学計器 HG-2 型) を使用した。

3. 試験操作

反応槽 (C) に NaCN 溶液を入れ、また分液ロート (B) には FeSO₄ 溶液を入れておく。別に、0.2% 水酸化ナトリウム (NaOH) 溶液を入れた 3 個の吸収瓶 (D) を用意し、デシケータに接続しておく、つぎに (B) のコックを開き、FeSO₄ 溶液を反応槽中に加え、処理を行う。同時にアスピレーターで空気を 1.5 l/min の速度で 1 時間吸引し、反応に際して発生する CN gas を吸収瓶に捕集する。処理終了後ただちに、反応槽液および吸収液中の CN⁻ 量を測定する。

4. CN⁻ の測定方法

3. の試験操作によって得られた反応槽液および吸収液は NaOH 溶液で pH 12 とし、イオン濃度計を用いて CN⁻ 量の測定を行った。

実験結果

(1) FeSO₄ 処理による CN⁻ 量の経時変化

NaCN 溶液 (CN⁻ として 0.05 モル) に FeSO₄ 溶液 (Fe²⁺ として 0.01 モル) を加え、処理液中の残存 CN⁻ 量および吸収液中の CN⁻ gas 量の経時変化をみると、Fig. 2 のごとくである。

すなわち、処理液中の残存 CN⁻ 量は処理開始 5 分後で、全 CN⁻ 量に対して 30% 以上存在していることがみられ、1 時間経過後においても、約 20% の残留が確認される。さらにこれ以上継続して処理を行っても、残存 CN⁻ 量は微弱に減少するのみであり、24 時間経過後においても、なお 16% の CN⁻ の残存が確認される。

一方、NaCN 溶液と FeSO₄ 溶液との反応に際して、遊離する CN gas の発生量について検討するに、1 時間処理においては全 CN⁻ 量に対して約 2.8% が CN gas として発生することがみられ、この発生は時間の経過と共に減少しているが、24 時間後においても、なお約 0.25% の CN gas が認められる結果を示した。

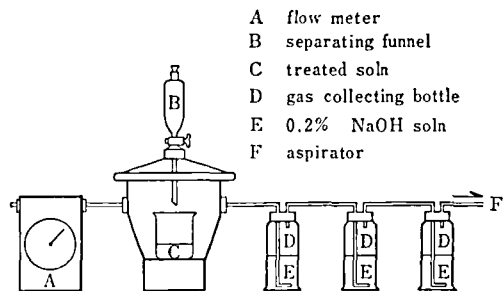


Fig. 1. Apparatus for collection of CN gas

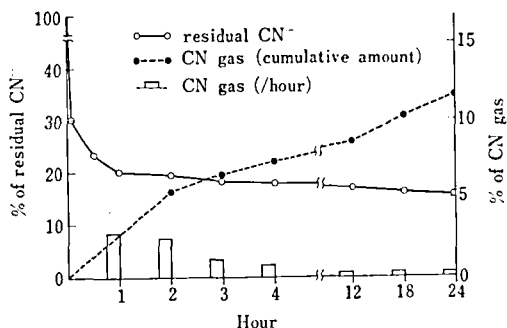


Fig. 2. Time course of amount of residual CN⁻ and CN gas on the treatment of sodium cyanide with ferrous sulfate

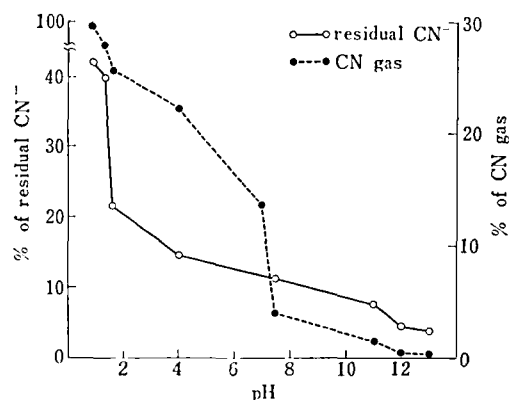


Fig. 3. Change of residual CN⁻ and CN gas on various pH in the sodium cyanide solution treated with ferrous sulfate

(2) FeSO₄ の CN⁻ 処理における pH の影響

NaCN 溶液に FeSO₄ 溶液を添加した場合の処理液の pH を種々に補正し、1 時間処理後の残存 CN⁻ 量および CN gas 量についてみると、Fig. 3 のごとくである。

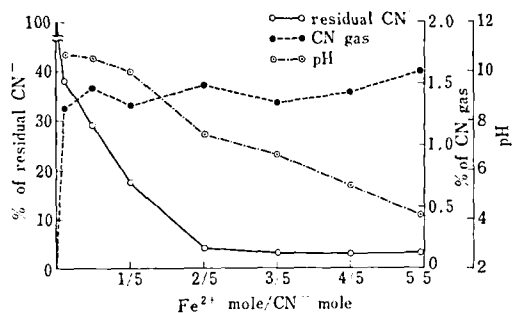


Fig. 4. Relationship between various concentration of ferrous sulfate and effect of fodium cyanide treated with ferrous sulfate

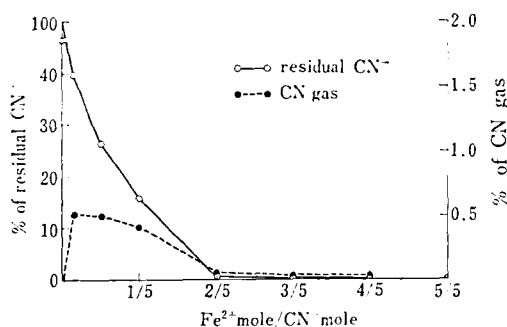


Fig. 5. Relationship between various concentrations of ferrous sulfate and effect of sodium cyanide treated with ferrous sulfate as added alkali reagent

すなわち、処理液を pH 1 付近に補正し、FeSO₄ を反応させた場合には全 CN⁻ 量に対して 40% 以上の CN⁻ が残存することを示し、反応が充分に進行しないことを示している。しかしながら、処理液の液性が中性からアルカリ性にうつるに従い、反応が進行し処理液中に残存する CN⁻ 量は減少することがみられる。一方、この実験において発生する CN gas についてみると、処理液の pH が 1 の場合では全 CN⁻ 量に対し、約 25% が CN gas として発生することが認められしかる。ながら、処理液の液性がアルカリ側にうつるに従い、CN gas 発生量は急激に減少することがみられ、pH 12 においてはわずか 0.5% を認めるにすぎない。

(3) Fe²⁺ の濃度変化と CN⁻ の消長の関係

つぎに NaCN 溶液に種々の濃度の FeSO₄ 溶液を加え、FeSO₄ 濃度変化と残存 CN⁻ 量および CN gas 発生量の関係を見ると、Fig. 4 のごとくである。

すなわち CN⁻ として 1 モルの NaCN に対し、Fe²⁺ として 1/10 モルを含む FeSO₄ 溶液を添加させた場合は 40% 以上の CN⁻ が処理液中に残存することが認められる。しかしながら、FeSO₄ の濃度を増加させるに従い、残存する CN⁻ 量は減少していくことがみられ、Fe²⁺ 2/5 モルを含む FeSO₄ 溶液を添加した場合は、わずか 5% が処理液中に存在するにすぎない。一方、本実験における CN gas 発生量についてみると、FeSO₄ 溶液の添加量を増加させても、CN gas 発生量は減少する傾向はまったく認められず、CN⁻ に対して等モル量の Fe²⁺ の添加においてもなお、約 1.5% の CN gas の発生が観察される。また本条件下での処理液の液性について検討するに、FeSO₄ 溶液の添加量の増加に伴って、pH が酸性側に移行することがみられ、等モル量においては pH 4 を示している。

(4) アルカリ剤添加時の FeSO₄ 濃度と残存 CN⁻ の関係

処理液の pH が 12 以上になるように、あらかじめ NaCN 溶液に NaOH 溶液を添加しておき、これに FeSO₄ 溶液の濃度を変化させ、同様の検討を行った結果は Fig. 5 のごとくである。

まず、CN⁻ に対して Fe²⁺ として 1/10 モルの FeSO₄ 溶液を添加した場合、処理液中の CN⁻ 量は 12% の値を示すが、FeSO₄ 溶液の添加量を増加させるにしたがって、残存する CN⁻ 量は急激に減少することがみられ、2/5 モルの FeSO₄ 溶液の添加によって、処理液中の CN⁻ 量は 0.2% 以下となることを示している。また本操作における CN gas 発生量を見ると、FeSO₄ 溶液の濃度を増加させるに従って、CN gas 発生量は急激に減少するのが観察され、2/5 モルの FeSO₄ 溶液の添加によって、0.05% 程度に CN gas 発生を抑制しうることを認める好結果を得た。

(5) FeSO₄ の CN⁻ 処理におけるアルカリ剤の検討

(4) における実験において、FeSO₄ を用いる CN⁻ 処理の際、処理液の液性をアルカリ性にするにより、CN⁻ 処理に好結果を得ると共に CN gas の抑制効果を示すことを認めた。そのため、処理液の液性の補正に用いるアルカリ剤について NaOH ならびに炭酸ナトリウム (Na₂CO₃) を用いて処理効果を比較検討するに Table 1 のごとくである。

すなわち、Na₂CO₃ においては pH 9.7 とした場合、CN⁻ の除去率 93.7%、CN gas 量 1.7% であるのに対し、NaOH では CN⁻ 除去率 99.4%、CN gas 量 0.1% を示し、Na₂CO₃ の使用よりも NaOH をアルカリ剤として使用した場合のほうが、すぐれていることは明らかである。また NaOH を用いて pH 12

Table 1. Effect of alkali reagents on sodium cyanide treated with ferrous sulfate

Alkali Reagent	Treated	Added CN ⁻ mg	Residual CN ⁻ mg	Found CN gas		Removal CN ⁻ %
	pH			mg	%	
non added	7.4	250	13.1	7.5	3.0	91.8
	7.7	250	1.5	1.1	0.4	99.0
	10.0	250	1.1	0.3	0.1	99.4
	12.0	250	1.0	0.05	0.02	99.8
Na ₂ CO ₃	7.5	250	13.0	7.5	3.0	91.8
	9.7	250	11.4	4.3	1.7	93.7

にした場合、CN⁻ 除去率 99.8%，CN gas 発生量は 0.02% 以下となり、ほぼ完全に処理しうる結果を示している。

考 察

著者らは NaCN を FeSO₄ によって、より安定な錯体として処理する方法について検討を行った。すなわち、NaCN 溶液に FeSO₄ を加えて処理を行った場合の処理液中の残存 CN⁻ 量ならびに CN gas 発生量についてみると Fig. 2 のごとくである。FeSO₄ 溶液の添加 1 時間処理において、なお 18% 以上の CN⁻ が残存するのが観察され、また本条件における CN gas 発生量は 2.8% 以上の値を示している。そこで残存する CN⁻ 量を減少させて CN 錯体形成を良好にさせるため、CN 錯体の形成条件について検討するに Fig. 3 のごとくである。すなわち、処理後の pH を種々に変化させた場合の CN⁻ の残存量および CN gas 発生量についてみると、酸性領域では処理液中の CN⁻ および CN gas 量共に除去効果の低いことが示されるが、処理液の pH が 12 以上においては残存する CN⁻ 量は 4% 以下を示し、また CN gas 発生量はわずか 0.5% を示すにすぎず、処理液の液性をアルカリ性に移行させることによって、残存する CN⁻ 量および CN gas 発生量を抑制することができると考える。一方、CN 錯体形成の反応速度をさらに向上させるためには FeSO₄ の濃度が重要な因子と考えられる。そこで、FeSO₄ 量と残存 CN⁻ 量および CN gas 発生量との関係をみると、Fig. 4 のごとくである。すなわち、FeSO₄ 量の増加に伴って残存する CN⁻ 量は減少していくことが認められ、全 CN⁻ 量に対して 2/3 モル量の FeSO₄ の添加で CN⁻ の除去率は 95% と好結果を示

した。しかしながら CN gas 発生量についてみると、FeSO₄ 量の増加にもかかわらず、CN gas 発生量を減少させることはできない。またこれらの処理液の pH を検討するに、FeSO₄ 量の増加に従って、pH の低下していくことが認められる。このことより、先の FeSO₄ 量を増加させても CN gas 発生量が抑制されない事実は、処理液の液性が酸性に移行したためと考える。以上の事実より、処理液の液性が pH 12 以上になるように NaOH を加え、そのうち FeSO₄ を添加すると Fig. 5 のごとく、全 CN⁻ に対して 2/3 モル量以上の FeSO₄ を添加することによって、CN⁻ の除去率は 99.8% 以上と良好な結果を示し、CN gas 発生量も 0.02% 以上となり、CN gas 発生を阻止しうる好結果が認められる。

結 論

高濃度 NaCN を FeSO₄ で処理するための条件を検討し、つぎのごとき結論を得た。

NaCN に、あらかじめ処理液の pH が 12 以上になるように NaOH を添加し、過剰量の FeSO₄ で処理を行うに、CN⁻ の除去率は 99.8% を示し、CN gas 発生量も 0.02% 以下と良好な結果が得られた。またこれらの結果から考えて、交通量の激しい路上における NaCN の輸送時の事故対策としては、特に微量の有害 CN gas の発生も可能なかぎり阻止する必要がある点を配慮した場合、水酸化ナトリウムの添加がすぐれているものと考えられる。

文 献

- 1) 浅田日出夫：用水と廃水，4，33 (1962)

ジゴキシンを経口投与したウサギにおける血清中のジゴキシニン濃度（第1報）

川村次良・佐藤 浩・木村俊夫・徳永裕司・三谷和子・福田秀男

Serum Digoxin Concentration after Oral Administration
of Digoxin in Rabbits. IJiro KAWAMURA, Hiroshi SATO, Toshio KIMURA, Hiroshi TOKUNAGA,
Kazuko MITANI and Hideo FUKUDA

Digoxin absorption has been studied in rabbits by means of ^{125}I -digoxin radioimmunoassay. Intravenously administered digoxin disappeared from serum at a rate which suggested processes with half lives of approximately 8.5 min. and 2.5 hrs. Gastrointestinal absorption rate was estimated by comparison of 3 hrs serum concentration curve after oral administration of several dosage of digoxin solution. When 0.1-0.6 mg of digoxin were administered orally, the areas under the curves were found to correlate proportionally to the dosage. When digoxin tablets were administered orally, digoxin absorption was found to be continued longer than the case of digoxin solution.

(Received May 31, 1975)

ま え が き

ジゴキシンは強心利尿剤として、他のジギタリス配糖体と共に広く用いられているが、治療量と中毒量が接近しているため、適切な血中レベルを保つ必要がある。通常、錠剤もしくは注射剤として投与されるが、1日当たりの常用量が3mg以下で、しかも維持量は0.5mgであるため、製剤の品質によっては直ちに中毒へ結びつく危険がある。

1971年、Lindenbaumら¹⁾が、4種の異なるロットのジゴキシニン錠の投与後の血中濃度がそれぞれ異なることを報告して以来、ジゴキシニンのいわゆる“bio-availability”に関して多くの研究がなされてきた^{2,3)}。

これらの研究はいずれもヒトを用いて行なったもので、実験上の制約は避けられない。

著者らは実験動物を用いてジゴキシニンの吸収を比較できるような系を確立するための、基礎的実験を行なったので報告する。実験動物としては、投与量、採血量、取扱いの容易さなどを考慮してウサギを用いた。

今回は0.1~0.6mgのジゴキシニンを主として溶液状態で投与し、血中濃度の時間的推移を検討した。

実験材料および方法

ジゴキシニンエタノール溶液 (Dig-E)：日本薬局方ジゴキシニン標準品をエタノールに溶かし、0.25mg/mlの溶液とした。

ジゴキシニン注射液 (Dig-I)：下記の処方により日本薬局方ジゴキシニン標準品を溶かして調製した。ジゴキシニン0.025%, エタノール10%, プロピレングリコール

40%, クエン酸0.075%, リン酸二ナトリウム0.225%

ジゴキシニン錠 (Dig-T)：市販の某社製品（1錠中0.25mg含有）を用いた。この製品は錠剤からのジゴキシニンの溶出が速くなるような処方の製法によって製造されたものである。各錠中のジゴキシニン含量の均一性を日局八変法⁴⁾によりその10錠を試験した結果、93~96%（平均含量94.4%）内にあることを確かめた。

血清中のジゴキシニン量の測定：CIS-SORIN 製ジゴキシニン ^{125}I -ラジオイムノアッセイキットを用いて測定した。このキットには ^{125}I -ジゴキシニン、標準ジゴキシニン溶液、ジゴキシニン抗血清、デキストラン炭末などが含まれ、主な反応ステップは

- 1) 反応混液を4°で30分間インキュベーション
- 2) デキストラン炭末による遊離ジゴキシニンの吸着
- 3) 室温で遠心分離後、上清のカウンティング

である。この操作はSmithらの方法⁵⁾に準じているが、測定の便利のため ^3H の代わりに ^{125}I を用いている。

一つの血清試料についてそれぞれ2回の測定を行ない、平均値を採用した。放射能の測定は日本無線理医学研究所製 JDC-752 型オートウエルガンマシステムにより行なった。

動物：体重2.8~3.6kgの健康なウサギを一夜絶食させて用いた。

投与方法：溶液を経口投与する場合は8号ゾンデを胃内まで挿入後、試料溶液を入れた注射筒を接続して注入し、さらにゾンデ内を生理食塩液2mlで2回胃内に洗い込んだ。静脈内投与は耳静脈から行なった。

錠剤の場合は、咽頭部に錠剤を置き、生理食塩液約

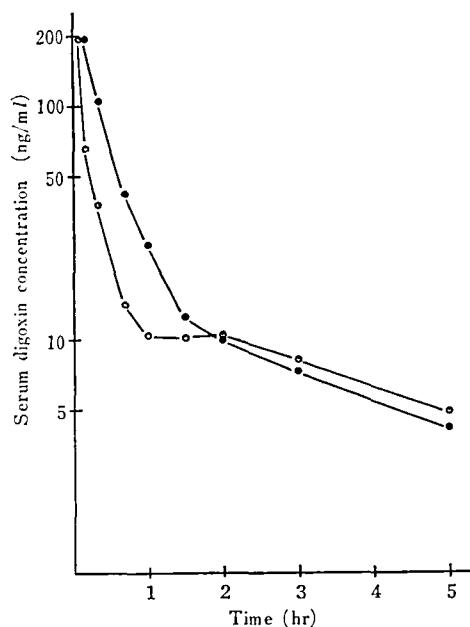


Fig. 1. Disappearance of digoxin from rabbit serum. Each rabbit was administered intravenously digoxin injection which contains 0.25 mg of digoxin. Blood samples were collected from ear vein and estimated their digoxin contents by radioimmunoassay.

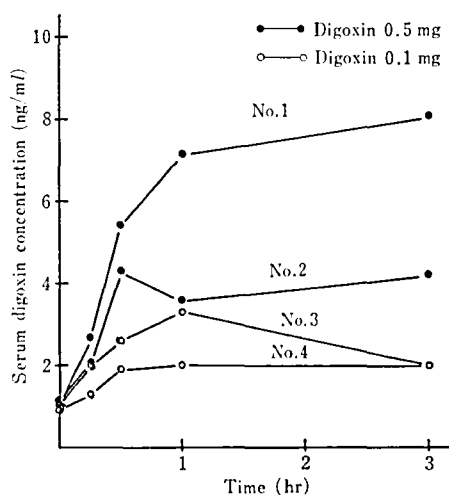


Fig. 2A

10 ml で飲みこませた。

血清の調製方法：耳静脈から採血後約 3 時間放置し、血清を遠心分離した。

実験結果

1. 静脈内投与による血液中からのジゴキシン消失速度の測定

2匹のウサギ（雌，3.6 kg および雌，3.5 kg）にそれぞれ Dig-I 0.25 mg を静脈注射し、血液中からのジゴキシンの消失速度を測定した。その結果を縦軸が対数日盛のグラフに図示すると、Fig. 1 の如くそれぞれのウサギについて二つの直線から成ることを確かめた。1.5 時間以後に見られる遅い消失曲線から、ウサギにおいてはほぼこの速度で排泄しているように思われる。それぞれのウサギについて 2～5 時間における血中濃度から算出した半減期は 145 分および 163 分であった。最初の 1 時間に見られる血中濃度の減少速度を推定するため、個々の測定から 2～5 時間で得られる回帰直線の値を差引いて半減期を求めたところ、それぞれ約 10 分および 7 分であった。

2. ジゴキシン溶液の経口投与後の血中濃度

2-1. 0.1 mg および 0.5 mg 投与における交差試験

経口投与する場合、投与量と血中濃度の相関性を調べる目的で、4 匹のウサギを 2 群に分け、No.1 およ

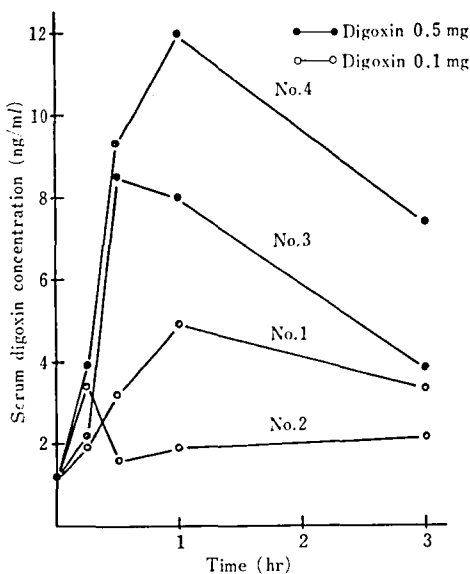


Fig. 2B

Fig. 2. Digoxin levels in the rabbit serum after administration of digoxin ethanol solution.

Fig. 2B shows the results obtained by cross-administration of digoxin to each rabbit (No. 1-4) at 10 days after the first experiment (Fig. 2A).

び No. 2 のウサギに、0.5 mg, No. 3 および No. 4 のウサギに 0.1 mg の Dig-E を経口投与し、3 時間の血中濃度を測定した。その結果を Fig. 2A に示す。10 日後に No. 1 および 2 に 0.1 mg, No. 3 および 4 に 0.5 mg を同様に投与し、3 時間の血中濃度を測定した。この結果を Fig. 2B に示す、

No. 1 および 2 の動物に 0.5 mg を投与したときの血中濃度曲線と、10 日後に 0.1 mg を投与したときの血中濃度曲線を比較するとき、それぞれの曲線下の面積比は、各動物について 2.14 および 1.93 であった。

一方、No. 3 および 4 の動物に 0.1 mg を投与したときの血中濃度曲線と、10 日後に 0.5 mg を投与したときの血中濃度曲線とから、A 群の場合と同様に面積比を求めると、各動物について 5.38 および 5.34 であった。

No. 1 および 2 の動物において投与量に対応する血中濃度比が小さかったのに反し、No. 3 および 4 では良好な投与量-血中濃度関係が得られた。

なお、両群の結果を平均し、それぞれの用量についての血中濃度曲線として示すと Fig. 3 のようになる。この場合の二つの曲線下の面積比は約 4 であった。

2-2. 0.2 mg および 0.6 mg 投与による比較

2-1 において、No. 3 および 4 の動物については投与量依存性の血中濃度曲線が得られたけれども、No. 1 および 2 では十分な相関性が得られなかったもので、さらに用量比を変えて 0.2 mg および 0.6 mg を投与した実験を行なった。動物は 3 匹ずつ 2 群にそれぞれ 0.2 mg および 0.6 mg を投与し、3 時間までのいくつかの時間における血中濃度を測定するとともに、9 時間目の血中濃度も測定した。この結果を Fig. 4 に示す。

両群の平均値から得られる二つの曲線下の面積を、投与後 3 時間までについて比較すると、その比は 3.75 であった。

投与の 9 時間後における各動物の血中濃度は、無視し得る程度であった。

なお、投与後の一定時間に投与したジゴキシンが全身の静脈血中に均一に分布しているかどうかを確かめるため、両群から 1 匹ずつを選び、投与の 1 時間後に心臓からも採血し、耳静脈からの血液と比較したところ有意な差は見られなかった (Table 1)。

3. 投与剤型の違いによる血中濃度の差 - 溶液と錠剤の比較

動物を 3 匹ずつ 2 群に分け、一方に Dig-E 2 m (0.5 mg)、他方に Dig-T 2 錠 (0.5 mg) を経口投与

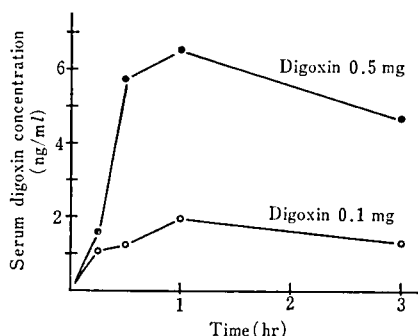


Fig. 3. Digoxin levels in the rabbit serum after oral administrations of 0.1 and 0.5 mg of digoxin in ethanol solution. Each point is the mean of the data from Fig. 2A and 2B.

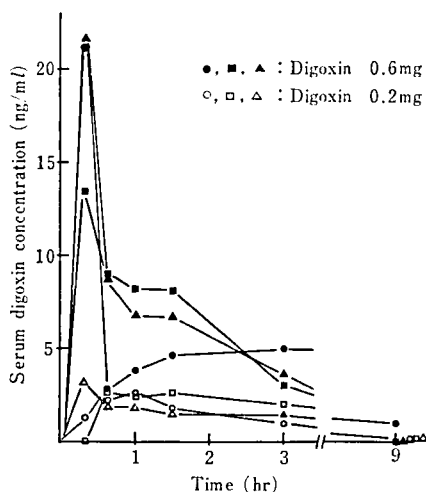


Fig. 4. Digoxin levels in the rabbit serum after oral administrations of 0.2 and 0.6 mg of digoxin in ethanol solution

Table 1. Digoxin concentrations in the serum from the ear venous and the intra-cardiac blood of the rabbits at 1 hour after oral administration of digoxin solution

Dose administered (mg/animal)	Found (ng/ml)	
	ear	heart
0.2	2.74	2.78
0.6	7.64	8.64

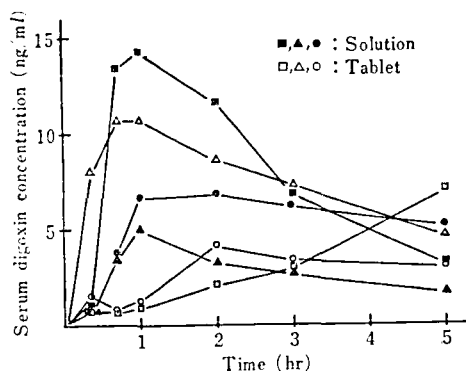


Fig. 5. Digoxin levels in the rabbit serum after oral administrations of 0.5 mg of digoxin in ethanol solution or in tablet

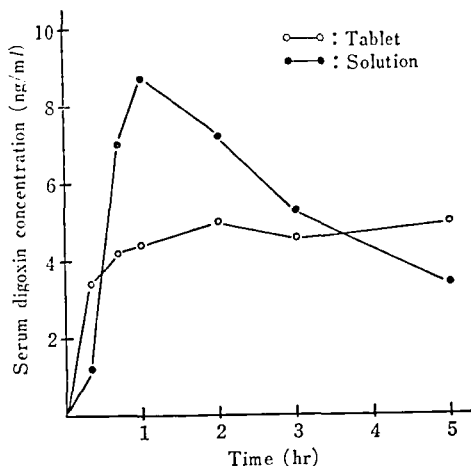


Fig. 6. Mean levels of digoxin in the rabbit serum after oral administrations of 0.5 mg of digoxin in ethanol solution or in tablet

し、投与後 5 時間の血中濃度を測定した。その結果を Fig. 5 に、両群の平均値の曲線を Fig. 6 に示す。Dig-E の場合には実験 2-1 における 0.5 mg 投与の場合と同様に、投与後 1 時間前後に最大血中濃度を示し、以後徐々に減少した。これに対し錠剤の場合には 1～5 時間にわたりある一定な血中濃度を示し、ウサギ胃腸管内における錠剤からの成分の溶出に一定の時間を要することを示している。しかし、錠剤投与によって溶液とほぼ同様な吸収を示す場合や、5 時間後にもなお血中濃度が上昇しつつある場合もあり、動物の個体差が大きく影響している。

5 時間までにおける両群の平均血中濃度曲線下の面

積を比較すると、Dig-E の場合を 1 とするとき、Dig-T では約 0.85 であった。

考 察

ジゴキシンの消化管からの吸収率を実験動物を用いて推定するための実験を行なった。

ウサギの血流中に取り込まれたジゴキシンは、静脈内投与の実験で示したように比較的速やかに組織へ移行していくように思われる。ついで血液と組織の間で平衡を保ちつつ半減期約 150 分速度で徐々に排せつ過程へ移行していくことがわかった。この速度は、ヒトの場合⁶⁾の半減期 1.8 日に比べてかなり速い。

今回の実験においてウサギに対する投与量として、ヒトに対する投与量に等しい 0.1～0.5 mg を採用したのは、投与量-血中濃度の関係が明確に現われる用量を検索するため、従って体重当たりの投与量はヒトの場合⁶⁾の約 20 倍である。

Greenblatt ら⁷⁾はジゴキシンのエリキシル剤と溶出速度の異なる 4 種の錠剤の投与後における血中濃度と尿排泄量を比較し、第 1 日の血中濃度曲線下の面積と、6 日間の尿への排泄総量が十分な相関性を持つことを示している。しかし実験動物の場合には長期間の採尿に技術的な難点があるため、血中濃度の測定のみを行なった。

実験 2-1 における交差試験において、二つの群でかなり異なる結果が得られたが、この 2 群の結果を総合すれば、ほぼ投与量に比例した血中濃度が得られた。実験 2-2 の結果と考え合わせるとき、投与量に比例した血中濃度を得るためには、少なくとも 1 群 4～5 匹のウサギが必要であることがわかった。ヒトにジゴキシンを投与した場合、ふつう体重 50～70 kg 当たり 0.5 mg のジゴキシンの投与により、投与 1 時間後に最高血中濃度を示すといわれているが、ウサギの場合、相対的に多量のジゴキシンを投与しているにも拘らず、それ程の急激な血中濃度の増加は見られない。これは Chiu らの報告⁸⁾にあるように、ウサギは絶食後も数日間にわたりかなり多量の餌が胃内に滞留しているためであるかも知れない。従って絶食方法などについて今後検討の必要がある。

錠剤投与後の血中濃度は、対照として行なった溶液投与の場合と比較して、非常に吸収が遅いことを示している。しかし、1 回のみの実験であるので、これがウサギの場合における錠剤からの吸収のパターンであるとは断定できないので、さらに実験を重ねるとともに溶出性の異なる錠剤について血中濃度の比較を行なう予定である。

血清中のジゴキシンの測定は、 ^{125}I -ジゴキシンを
用いるラジオイム、アッセイにより行なったが、投与
前のウサギ血清の測定値が平均約 1 ng/ml 程度でか
なり高い値である。従って投与前の血清の測定値を盲
検値として投与後における血清の測定値から差引い
た。ヒトの血清ではこのような現象は報告されていな
いので、ウサギ血清によって起こる高い盲検値の原因
は現在のところ不明である。

文 献

1) J. Lindenbaum et al.: *New Engl. J. Med.*,
285, 1344 (1971)

- 2) J.L. Calaizzi, J.G. Wagner: *J. Amer. Pharm.*
Assoc., NS15, 43 (1975)
- 3) Federal Register, 39 (15), 2471 (1974)
- 4) 徳永裕司ら：衛生試報, 92, 66 (1974)
- 5) T.W. Smith et al.: *New Engl. J. Med.*,
281, 1212 (1969)
- 6) D.H. Huffman, D.L. Azarnoff: *J. Amer.*
Med. Assoc., 222, 957 (1972)
- 7) D.J. Greenblatt et al.: *J. Amer. Med.*
Assoc., 229, 1774 (1974)
- 8) W.L. Chiu et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, 17,
2170 (1969)

Chinoform および 5-chloro-8-quinolinol のイヌに対する長期投与実験

浦久保五郎・長谷川 明・永松国助・小林和雄・戸部満寿夫

Feeding Test of Chinoform and 5-chloro-8-quinolinol in Dog

Goro URAKUBO, Akira HASEGAWA, Kunisuke NAGAMATSU,
Kazuo KOBAYASHI and Masuo TOBE

Chinoform (5-chloro-7-iodo-8-quinolinol) and 5-chloro-8-quinolinol (5-CIHQ), a deiodinated meta-
bolite of chinoform found in dog's urine, were given orally to 2 groups of 2 dogs. Starting from
30 mg/kg/day and 18 mg/kg/day respectively, daily dosings were continued increasing the doses
at every 5 days gradually. After the daily doses increased to 300 mg/kg and 510 mg/kg, the doses
were fixed and dosings were kept up to 51st and 55th day for chinoform group and 83rd day for
5-CIHQ group.

In chinoform group, some depression of body weight gain and characteristic neurological sym-
ptoms were observed at later stage of feeding, ataxic gait in 24-34th day, astasic and abasic states
in 36-48th day. In 5-CIHQ group, such symptoms were not found, except a little depression of
body weight gain. By the histological examination, some changes of renal tubules were noted in
chinoform group. However, no change was detected in 5-CIHQ group as well as control group.

On the other hand, the contents of several kind of metals in dog's organs were determined by
atomic absorption spectroscopy after the dosings. An outstanding finding was the increase of zinc
and iron concentration in sciatic nerve of chinoform group, while 5-CIHQ group revealed no
difference on metal contents comparing with control group. So, a possible relation between the
neurological symptom and the increase of zinc and iron content was suggested.

(Received May 31, 1975)

緒 言

Chinoform をイヌに連続投与すると、運動障害を
伴う神経系の変化を生ずることが報告されている¹⁻³⁾。
一方、イヌにおける chinoform の尿中代謝物とし
て、そのグルクロナイド、サルフェイトのほか、5-
chloro-8-quinolinol (5-CIHQ) が検出されている³⁾。
スモン症状の発現が chinoform のみによるか、また
はその代謝物である脱ヨード体の 5-CIHQ でも同様の
作用が発現するか否かを明らかにして、スモン発症機

序解明の手がかりを得る目的で本研究を行った。すな
わち、前記両化合物を各々イヌに連続投与し、イヌの
生理に及ぼす両者の影響を比較し、また、両化合物が
共に金属キレート試薬であることから、組織中の金属
含量への影響をみるため、投与後のイヌを解剖して得
た組織中の金属を測定し比較した。

実 験 方 法

生後 10 カ月ないし 1 年の体重 5.3~8.1 kg の雑犬
6 頭を 2 頭宛の 3 群に分け、各々対照群、chinoform

投与群, および 5-ClHQ 投与群とした。

薬物は chinofom, 東京化成製, 特級および 5-chloro-8-quinolinol, 東京化成製, 試薬特級を用い, これらを少量の飼料に粉乳と共に混ぜ, 給飼前に与えた。ただし実験後期に至り, 摂餌不良ないし不能になった例では, 薬物をゼラチンカプセルに封入し, 強制経口投与した。

薬物投与量は, chinofom については 30 mg/kg/day から開始し, 5 日毎に 30 mg/kg ずつ増量し, 36 日目に 300 mg/kg/day となったので以後は同量を維持して与え, 1 頭は 52 日目に, 他の 1 頭は 56 日目に各々解剖した。5-ClHQ の投与は, 18 mg/kg/day すなわち chinofom の 30 mg/kg と等モル量から開始し, chinofom の場合と同様に 18 mg/kg ずつ等間隔で増量し, 36 日目に 180 mg/kg となり 40 日目まで投与した。しかし, この時期でも認めるべき一般症状の変化が出現しなかったため, その後は 5 日毎に 30 mg/kg ずつ増量し, 80 日目には 510 mg/kg に達し, この量を 82 日目まで投与し, 83 日目に解剖した。なお, これら薬物投与の経過を Fig. 1 に示す。

解剖は, いずれもベントバルビタール麻酔によって動物を殺死させて行った。肉眼的観察を行った後, 脳, 脳下垂体, 視神経, 脊髄, 末梢神経 (坐骨神経), 肝, 腎, 脾, 甲状腺, および副腎を採り, 10% 中性等張ホルマリンで固定し, 神経系は hematoxylin-eosin 染色, luxol fast blue-eosin 重染色, Bodian 染色, および Masson's-trichrome 染色を, その他の臓器については hematoxylin-eosin 染色を施し, 鏡検した。

また, 解剖時において各動物の脳, 小脳, 脊髄, 坐骨神経, 正中神経, 肝, 胆汁, 腎, 血液, 筋肉を採取し, 原子吸光分析によりこれら臓器組織中の種々の金属濃度を測定した。すなわち坐骨神経は約 300mg, その他の臓器組織は約 1g を取り, デシケーター (乾燥剤; 五酸化リン) 中で乾燥したのち, 低温灰化装置により酸素流量 100 ml/min, 高周波出力 150W 下で約 48 時間灰化した。各々の灰分に塩酸 1ml を加えて水浴上で静かに蒸発乾固したのち, 0.1N 塩酸に溶かして 5ml とし, 分析用試料原液とした。

分析には日立製作所製 207 型原子吸光装置を用い, 亜鉛, 鉄, マンガン, ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウムの測定を行った。すなわち, 試料原液を 0.1N 塩酸で各金属の検量線に適合する濃度に希釈し, 直接法により各金属の量を測定した。ただし, カルシウムとマグネシウムの定量には, 試料原液を各々塩化ランタンの 0.1N 塩酸溶液で希釈して, 各々 1% および 0.1% の塩化ランタンを含む試料溶液

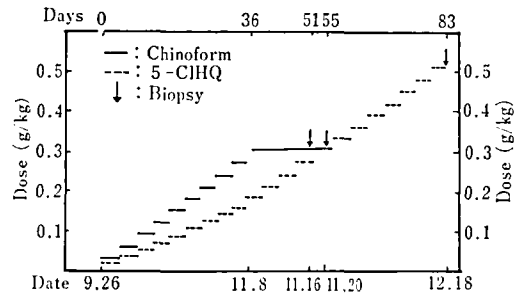


Fig. 1. Details of gradual dosings of chinofom and 5-ClHQ to dogs

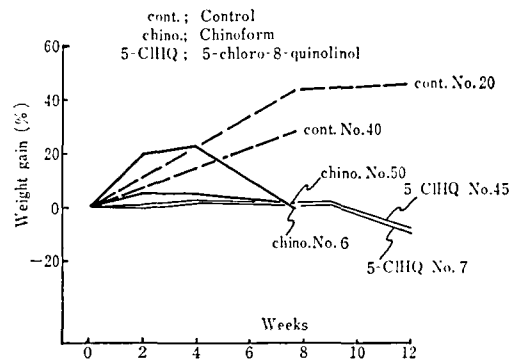


Fig. 2. Body weight of control, chinofom and 5-ClHQ-treated dogs

を調製して用いた。測定の諸条件は辻ら¹³⁾の報告と同様で, 各金属の測定波長は次のとおりとした。

Zn: 2139Å, Fe: 2483Å, Mn: 2795Å,
Na: 3302Å, K: 7665Å, Ca: 4227Å,
Mg: 2852Å

実験結果

1. 体重

体重の推移を, 実験開始時の体重に対する増減率で示すと Fig. 2 のとおりである。対照群の 2 例は 52 日目で約 28 および 44% の増加を, また実験終了時まで飼育した 1 例 (No. 20) は 84 日目で 46% の増加を示した。

Chinofom 投与群のイヌ No. 50 は 14 日目に 20%, 28 日目に 23% の増加を示したが, 52 日目では実験開始時の体重まで減少した。またイヌ No. 6 はほとんど体重増加を示さず, 52 日目から 56 日目までの 4 日間に約 9% の減少を来した。5-ClHQ 投与群では, イヌ No. 7 および No. 45 とともにほとんど増加を示さず, 84 日目は 2 例とも約 6~9% の減少を示し

Table 1. Symptoms observed in chinoform-treated dogs

Days	Dog No. 6	Dog No. 50
7	green stool	
10		green stool
24	ataxic gait	anorexia
34		ataxic gait
36	vomitting, anorexia, ataxic gait, negative attitude about the up-stairs	anorexia, ataxic gait, negative attitude about the up-stairs
41		anorexia, difficulty in walking
47	unsteady stance	sitting with extensive position at both knee joints
51	difficulty in walking, anorexia	
52		biopsy
56	biopsy	

た。

2. 一般症状

対照群の2頭には、実験期間を通じて特に異常な症状を認めなかった。

5-ClHQ 投与群の2例では、1例 (No. 45) が70日以降食欲不振を示し、さらに軟便ないしは下痢を呈したが、78日目から回復し、2例とも実験終了まで全身状態および運動機能に関し対照群との間に差を全く認めなかった。

一方 chinoform 投与群の2頭は、Table 1 にその経過の概略を示すように、運動機能の著しい異常を主徴とする変化を示した。すなわちイヌ No. 6 では実験開始7日目に緑色便の排出を見たが、この時期にはその他の異常な所見はみられなかった。24日目に食欲不振および右後肢の筋緊張亢進を呈し、階段の昇降を拒絶した。さらに、36日目は嘔吐を認め、歩行時に両側後肢の著明な左右への振れを生じ、階段の昇りが不能となった。また階段の降りは可能であったが、両側後肢は跡状状態を呈した。なお後肢の膝蓋腱反射はほぼ正常であった。51日目には全く歩行不能となり、食欲は極度に低下したので、56日目にペントバルビタール麻酔によって致死させ解剖した。

また、イヌ No. 50 は実験開始後10日目に No. 6 と

同様の緑色便を排出した。25日目頃から食欲がやや減退したが、歩行、顔貌等全身状態には特に異常を認めなかった。34日目に歩行時に後肢に軽度の痙直性の運動が認められ、立位で腰部をおさえつけるとほとんど抵抗なく腰を落した。36日目は、歩行時に両側後肢の趾先が趾側に強く彎曲し、あたかも趾先を引きずるような状態を呈し、また両後肢の左右への振れを見た。なお、このとき右後肢膝蓋腱反射が左側にくらべやや強かった。41日目には食欲はほとんど消失し、自発的な歩行はほとんどなかった。48日目の所見では、両側後肢の脱力が見られ、立位および強制的な歩行時に右側に倒れた。坐位では両側後肢ともに膝関節部で伸展位をとり、直接大腿部を床につけるが、この時期でもなお全身状態は良好であった。52日目には横臥の状態となり食欲が全く消失したので、ペントバルビタール麻酔によって致死させ解剖した。

3. 剖検所見

実験開始後52日目に解剖した chinoform 投与群の1例 (No. 50) と比較のために同時に解剖した対照群の1例 (No. 40)、56日目に解剖した chinoform 投与群の1例 (No. 6)、また84日目に解剖した 5-ClHQ 投与群の2例と対照群の1例 (No. 20) のいずれも、肉眼的に特記すべき変化を認めなかった。

4. 組織学的所見

検索した脳、脳下垂体、末梢神経、肝、脾、甲状腺および副腎では異常所見を認めなかった。

しかし腎において、chinoform 投与群のイヌ No. 50では近位尿管管内に軽度の尿円柱の出現および間質内円形細胞の浸潤を、またイヌ No. 6 では Henle の蹄係で軽度の上皮細胞の剝離脱および核濃縮像、間質の円形細胞浸潤を認めた。また対照群のイヌ No. 40および 5-ClHQ 投与群のイヌ No. 45 で間質内円形細胞の浸潤および間質の拡張像を認めた。

なお、組織学的所見の一部について、Fig. 3-1~3-10 に示す。

5. 臓器中金属濃度

原子吸光分析の結果を Table 2 に示す。神経系については、chinoform 投与群の坐骨神経中の金属含量は一般に高い傾向がみられたが、特に Zn と Fe の濃度が対照群と比較して著明に高くなっていることが認められた。5-ClHQ 投与群では各金属ともに対照群と濃度の差はみられなかった。

また他の臓器では、肝、胆汁、腎、血液中においても、chinoform 投与群の Zn 濃度は対照群と比較して高い値を示した。しかし他の金属ではあまり差はみられなかった。また 5-ClHQ 投与群では、胆汁中の Fe



Fig. 3-1. Lumbar cord. control dog
(No. 40)
luxol fast blue-eosin, $\times 8$

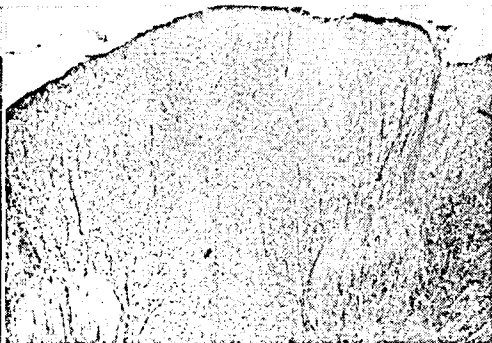


Fig. 3-2. Lumbar cord. chionoform-treated
dog (No. 6)
luxol fast blue-eosin, $\times 8$



Fig. 3-3. Lumbar cord. 5-ClHQ-treated
dog (No. 7)
luxol fast blue-eosin, $\times 8$

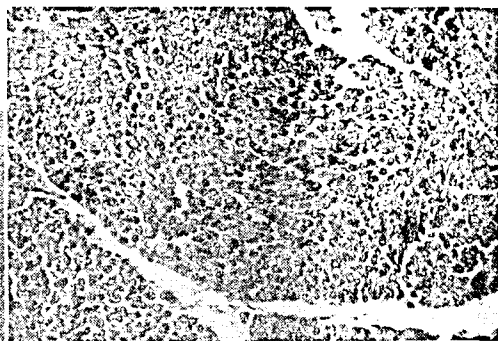


Fig. 3-4. Sciatic nerve. control dog
(No. 40)
luxol fast blue-eosin, $\times 40$

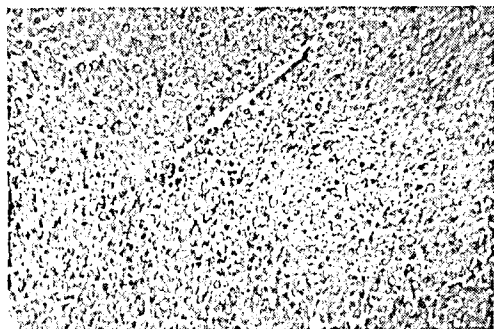


Fig. 3-5. Sciatic nerve. chionoform-treated
dog (No. 6)
luxol fast blue-eosin, $\times 40$

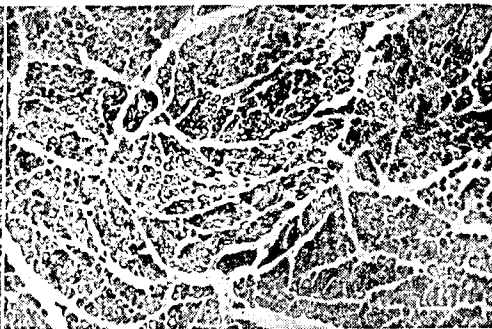


Fig. 3-6. Sciatic nerve. 5-ClHQ-treated
dog (No. 7)
luxol fast blue-eosin, $\times 40$

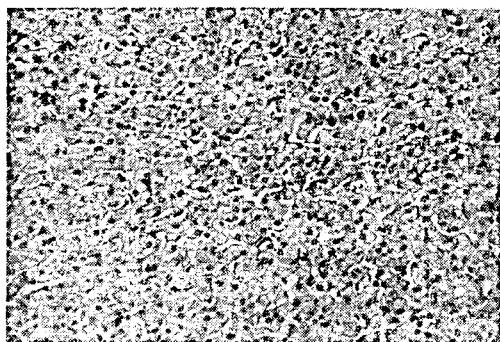


Fig. 3-7. Liver. control dog (No. 40)
hematoxylin-eosin, $\times 40$

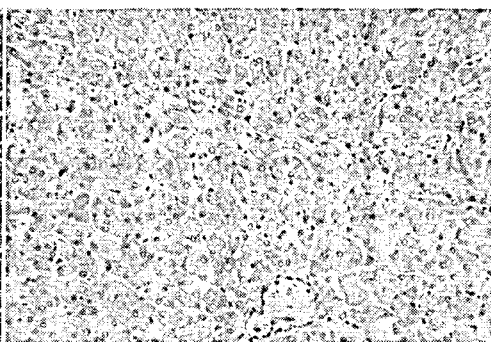


Fig. 3-8. Liver. chinoform-treated dog
(No. 6)
hematoxylin-eosin, $\times 40$

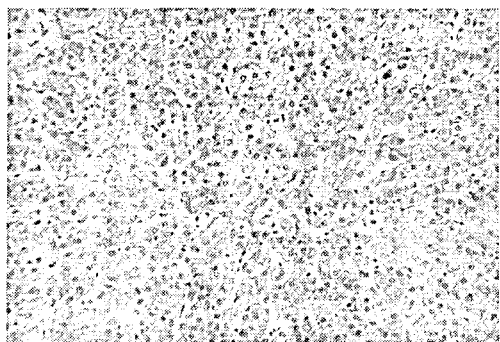


Fig. 3-9. Liver. 5-ClHQ-treated dog
(No. 45)
hematoxylin-eosin, $\times 40$

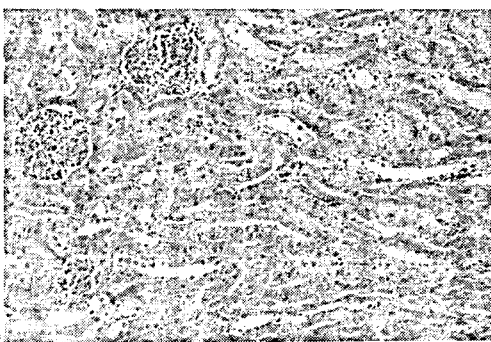


Fig. 3-10. Kidney. 5-ClHQ-treated dog
(No. 45)
hematoxylin-eosin, $\times 40$

濃度が著明に高いことを除いては、測定したいずれの金属濃度についても対照群との間に差が認められなかった。

考 察

サル、イヌ、ネコ、ウサギ、ニワトリあるいはウズラに chinoform を連続投与すると、下肢の運動障害を主徴とする障害が出現し、特にイヌあるいはネコでは著明な末梢神経の脱髄および脊髄後索の変性が認められている。

また一般臓器に対しても、例えば肝、腎、脾、腸管などに変化を生ずることが知られている。

Roesch ら¹⁰⁾ は、chinoform の近縁物質の1つである 5-nitro-8-quinolinol をラットに23日間連続経口投与 (150 mg/kg/day) し、下肢の麻痺と坐骨神経の脱髄を認めている。しかし、この毒性発現の機序については現在不明である。

浦久保ら⁹⁾ は、chinoform を投与したイヌの尿中代

謝物を検索し、chinoform の脱ヨード体とみなされる 5-ClHQ を同定した。そこで今回 chinoform と 5-ClHQ をイヌに与え、それらの影響を比較した。その結果 chinoform 投与群では明らかな運動障害を認めたが、一方 5-ClHQ では chinoform による発症量 (約 200 mg/kg) の約4倍当量まで投与量を増加してもななら運動障害を認めなかった。

イヌを解剖して得た標本の組織学的検索において、chinoform 投与によって明らかな運動障害が発現した反面、対応すべき病理組織学的変化像が認められなかった点については、運動障害をおこした2頭のうち1頭 (No. 50) は発症後27日目、また他の1頭 (No. 6) は32日目にそれぞれ剖検したものであり、剖検の時期がいくらか早すぎたため変化がみられなかったものと思われる。

大月ら⁵⁾ は雑犬13頭を用いた実験で、発症までの chinoform 総量が 1688—1678 mg/kg、発症日は 20—144 日、発症から剖検までの日数については1日後か

Table 2. Metal contents in tissues of dog determined by atomic absorption spectroscopy ($\mu\text{g/g}$ wet tissue^{*1})

Tissues & groups	Zn	Fe	Mn	Na	K	Ca	Mg
Cerebrum							
Control	14.91	12.94	none ^{*3}	1566	3272	70.88	153.5
Chinoform	15.65	14.55	none	1665	3387	83.50	158.7
5-Cl-HQ	16.10	20.47	none	1592	3202	69.50	163.3
Cerebellum							
Control	16.45	13.75	none	1604	2356	56.00	167.8
Chinoform ^{*2}	16.25	13.65	none	1904	2895	75.2	160.0
5-Cl-HQ	14.77	17.57	none	1447	2882	57.83	142.5
Spinal cord							
Control	8.35	6.45	none	1305	2805	93.9	114.0
Chinoform	10.30	11.90	none	1445	2665	53.4	128.5
5-Cl-HQ	8.72	8.50	none	1555	2795	93.9	118.0
Sciatic nerve							
Control	6.12	5.39	none	1298	1378	86.5	40.25
Chinoform	12.90	9.25	none	1728	2005	103.5	56.25
5-Cl-HQ	8.81	4.33	none	1111	1525	69.5	52.50
Blood							
Control	5.65	430	none	3545	359.5	67.5	44.35
Chinoform	11.78	457	none	3775	367.5	65.7	35.85
5-Cl-HQ	5.10	478	none	3436	341.4	61.2	40.65
Liver							
Control	47.00	295.3	2.84	923	3210	51.6	204.4
Chinoform	72.10	158.6	1.73	1413	3120	64.0	177.3
5-Cl-HQ	49.58	261.6	1.48	903	3320	37.6	173.0
Kidney							
Control	21.89	69.50	1.125	1753	2645	109.9	139.5
Chinoform	31.65	74.35	0.713	1968	2825	92.8	164.4
5-Cl-HQ	26.05	65.00	0.688	2380	2525	133.0	174.1
Muscle							
Control	47.15	29.85	none ^{*3}	607.5	4511	40.18	286.0
Chinoform	43.80	30.10	none	672.5	4240	43.31	289.0
5-Cl-HQ	58.45	41.70	none	502.5	4239	38.45	290.0
Bile							
Control	0.78	1.61	none	6225	885	320	55.3
Chinoform	2.00	2.99	none	6705	970	275	48.9
5-Cl-HQ	1.69	4.87	none	6515	687	324	50.4

^{*1} Values are the mean of 2 dogs.^{*2} One dog's results^{*3} Not detected

ら144日後で、剖検した11頭全例で脊髄後索に何らかの変化像を見た。従って今回の結果は大月らの得た成績と多少のずれがあったが、chinoform による神経障害の過程では機能障害が先行することを示唆するものと考えられる。

Table 2 に示す組織中金属含量の分析結果について Mn, Na, K, Ca, Mg の各金属については、特に着目すべき点はみられなかった。注目すべきは Zn および Fe の定量値であり、主たる所見としては chinoform 投与群の坐骨神経および肝における Zn および Fe の含量の増大であり、5-ClHQ 投与群では対照群とくらべて差が認められなかった。

スモンと chinoform との関係の解明は、患者の尿あるいは舌苔が緑色調を呈したことに端を発した。そしてスモン患者の緑尿、緑便中に含まれる緑色物質が chinoform と Fe のキレート物質であること¹¹⁾、さらにこの緑色の舌苔および尿中には Fe のほかに Zn 含量の多いことも指摘された¹²⁾。これらの所見は chinoform が生体中の Fe または Zn に何らかの影響を及ぼしていることを示すものであった。その後、神林ら¹⁴⁾はラットに chinoform を1回経口投与し、投与後2～12日まで、腎、筋肉中の金属を分析して肝および腎で Zn が投与前にくらべて増加していることをみている。また豊倉¹⁵⁾は chinoform を投与した緑尿排泄マウスに ⁵⁹Fe-クエン酸鉄を投与すると ⁵⁹Fe が脾に低く肝で高く、⁶⁵Zn-塩化亜鉛投与では脾に低く肝で高くなり、これらの金属代謝への chinoform の影響を考えた。

これらの所見は chinoform または金属の1回投与であり、一過性の影響をみているものといえよう、その点われわれの実験では chinoform と 5-ClHQ の長期連続投与であり金属代謝に及ぼす影響がある程度定着した状態における金属含量を測定しているので、スモンの実態により近い実験結果であろう。いずれにしても以上の所見は chinoform の毒性発現に、そのキレート能が関係していることを推測させるものである。

しかし今回の結果で、5-ClHQ にもキレート能があるにもかかわらずその大量連続投与により神経障害が見出されなかったことは、chinoform による障害を考える上に大きな示唆を与えた。すなわち chinoform や 5-ClHQ の神経生理に及ぼす影響がたとえそれらのキレート能に負うものであっても、それだけによって論じられない未知の要因を含むことを示しているといえよう。その論拠としてイスに 5-ClHQ を大量連続投与しても、坐骨神経その他多くの臓器中の Zn, Fe などの含量が対照群とくらべて差がないという今回の実験結果がある。

また参考となる研究報告として、高橋ら¹⁶⁾は ¹⁴C-chinoform をウサギに腹腔内投与して各神経組織内への ¹⁴C とりこみを比較し、坐骨神経へのとりこみが比較的高く、またラットでは坐骨神経内の濃度が高いことも報告している。しかし、5-ClHQ についてはまだこのような研究報告はみられていない。

今回の実験結果として、イスに対する連続投与により、chinoform では神経症状の発現と坐骨神経中の Zn および Fe 含量の増加、5-ClHQ では神経症状も臓器中金属含量変化もないことが明らかにされた。したがって、その説明は今後の研究に待つとしても、神経症状と Zn および Fe 含量変化とは何らかの関連が期待される。

文 献

- 1) 井形昭弘, 豊倉康夫: 医学のあゆみ, **75**, 309 (1970)
- 2) 池田良雄, 戸部満寿夫, 鈴木康雄, 小林和雄, 鈴木幸子, 川崎 靖: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 3**, 190 (1971)
- 3) 高橋理明, 納寿一郎, 奥野良臣: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 3**, 201 (1971)
- 4) 大滝サチ, 江頭靖之: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 9**, 38 (1972)
- 5) 大月三郎, 渡辺晶祐, 立石 潤, 斎藤 章, 黒田重利: スモン調査研究協議会研究報告書 **No. 9**, 49 (1972)
- 6) 黒岩義五郎, 大西晃生, 井上尚英: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 9**, 156 (1972)
- 7) 小口喜三夫, 佐藤 猛, 椿忠雄: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 9**, 195 (1972)
- 8) 早瀬正二, 山本哲男, 岩砂和雄, 安江隆夫, 棚橋芳彦, 名和 誠, 日江井恵次: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 9**, 313 (1972)
- 9) 浦久保五郎, 城戸靖雅, 池淵秀治, 永松国助: *RADIOISOTOPES*, **24** (7), 51 (1975)
- 10) Roesch E. et al.: *Arch. Toxicol.*, **20**, 313 (1965)
- 11) 田村善蔵: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 3**, 159 (1971)
- 12) 池田良雄, 戸部満寿夫, 鈴木康雄, 小林和雄, 鈴木幸子, 川崎 靖: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 3**, 207 (1971)
- 13) 辻楠雄, 鈴木康雄, 戸部満寿夫, 外村正治, 恵本温子, 斎藤 勝, 荒木三樹夫, 村松 学: 衛生試験所報告, **90**, 20 (1972)
- 14) 神林敬一郎, 椿忠雄: スモン調査研究協議会研究報告書, **No. 9**, 198 (1972)
- 15) 豊倉康夫: 厚生省特定疾患スモン調査研究班昭和47年度研究業績, **62** (1973)
- 16) 高橋康夫, 北嘉秀正, 荒木一明: 厚生省特定疾患調査研究スモン班昭和48年度研究業績, **135** (1974)

シンナーの毒性に関する研究

川崎 靖・鈴木幸子・小林和雄・戸部満寿夫・池田良雄

Studies on the Inhalation Toxicity of A-thinner, its Principal Constituents and Chloroform

Yasushi KAWASAKI, Sachiko SUZUKI, Kazuo KOBAYASHI,
Masuo TOBE and Yoshio IKEDA

Acute inhalation toxicities of A-thinner, toluene, ethyl acetate, a mixture of toluene and ethyl acetate (1:4) and chloroform, and a subacute inhalation toxicity of A-thinner were studied in male Wistar rats.

In the acute study LC50s in one hour exposure were 128.2 mg/l for A-thinner, 289.0 mg/l for toluene, 200.0 mg/l for ethyl acetate, 312.0 mg/l for the mixture and 74.6 mg/l for chloroform. As the toxic symptoms an increased movement, salivation, lacrimation, decreased movement, tremor, head-drop and respiratory depression were noted successively.

In the subacute study A-thinner at the concentration of 84.1 mg/l was applied to 10 rats for 10 minutes twice daily. Growth depression, lymphopenia and four deaths were noted in the treated group. Judging from the time required for the onset of head-drop, tolerance did not seem to develop by the repeated inhalations. Histopathological examination did not reveal any particular changes, except pneumonia in two of the dead animals.

(Received May 31, 1975)

緒 言

所謂“シンナー遊び”によって青少年が犯罪を起したり、あるいは死亡するなど、社会的な問題となっていることはよく知られている。一方シンナーの一般の毒性あるいはこれを続けて吸入した場合の依存性、さらにはシンナーの吸入中におこる死亡とシンナーとの関係等、未だ説明されていない点が多い。

今回、市販のシンナーおよびその成分についての毒性を調べる目的で、ラットによる急性吸入試験および亜急性吸入試験を行ったのでその成績を報告する。

実 験 方 法

(1) 検体

急性吸入試験では、検体として市販のシンナー、トルエン、酢酸エチルおよびトルエンと酢酸エチルの1:4混合液(以下混合液という)と、これら検体と比較の意味で毒性の強いクロロホルムの計5種類を用いた。なおシンナーは製造会社によりその組成が多少異なるが、一応標準組成と考えられているものがある(Table 1参照)。今回使用したAシンナーは当所医薬品部の分析結果ではTable 1に示すとおりであった。また亜急性吸入試験では、急性試験で用いたと同一のAシンナーを用いた。

(2) 動物

Table 1. Compositions of 'thinner

	A-thinner (%)	Standard (%)
toluene	52.3	65
ethyl acetate	3.3	20
iso-butyl acetate	3.6	5
methyl iso-butyl ketone	5.2	
iso-butyl alcohol	3.8	5
ethylbenzene	0.79	
o-xylene	0.17	
m-xylene	0.96	
p-xylene	0.38	
iso-amyl acetate		4
cellosolve		1
others	29.6	

急性、亜急性吸入試験ともに市販の幼若ウイスター系雄ラットを使用した。急性試験では各々6匹からなる群を用量段階の数だけ準備した。また亜急性試験では20匹を用い、これを10匹づつの2群に分け、1群を対照群、他の1群を処置群とした。なお飼育は個別ケージで行ない、飼料および水は自由に摂取させた。

3. 吸入装置および吸入操作

急性吸入試験では23.4~26.7lの容積をもつガラス

Table 2. Mortality and times required for onset of head-drop and respiratory arrest

	mg/l	head-drop	stoppage of respiration	mortality		mg/l	head-drop	stoppage of respiration	mortality
Thinner	211.9	5'	18'	6/6	Toluene	642.6	1'	6'	6/6
	176.6	5'30''	27'	4/6		535.5	2'	6'	4/6
	147.2	6'	32'	3/6		446.3	2'	8'	5/6
	122.8	13'	32'	3/6		371.9	4'	17'	4/6
	102.3	11'30''	59'	1/6		309.9	5'	22'	2/6
	85.3	12'	—	0/6		258.3	6'	24'	3/6
	71.1	18'	—	0/6		215.2	4'30''	15'	2/6
Ethyl Acetate	246.4	4'	36'	6/6	Toluene	179.4	5'	18'	2/6
	239.6	4'30''	39'	5/6		149.5	6'	—	1/6
	218.5	6'	48'	5/6		124.6	8'	—	0/6
	198.3	8'	53'	2/6					
	165.2	9'	51'	1/6					
	137.7	12'	—	0/6					
Toluene (1): Ethyl Acetate (4)	443.8	2'	13'	6/6	Chloroform	170.9	1'30''	5'	6/6
	369.9	5'	39'	4/6		118.7	2'30''	20'30''	5/6
	308.3	5'30''	53'	4/6		82.4	2'	18'	5/6
	256.9	6'	60'	2/6		57.2	2'30''	50'	4/6
	214.0	10'	54'	2/6		39.7	10'	54'	1/6
	178.4	11'	—	0/6		27.6	12'30''	—	0/6

製デシケーターに動物を入れ、デシケーターの蓋に幅2cm、長さ20cmのろ紙8本を懸垂し、さらに容器内中央部に電池式攪拌装置を置いた。動物を容器内に入れた後シンナーでは71.1~211.9 mg/lの7段階、トルエンは124.6~642.6 mg/lの10段階、酢酸エチルは137.7~246.4 mg/lの6段階、混合液は178.4~443.8 mg/lの6段階、およびクロロホルムは27.6~170.9 mg/lの6段階の用量で各検体を塗布し直ちに蓋を閉じ、この時点をも0時間とし、以後60分間攪拌扇を廻転させつつ曝露して、動物の一般症状、呼吸停止時間等を調べ、60分後生死を確認し死亡動物数からLitchfield-Wilcoxon法によりLC₅₀値を計算した。

また亜急性吸入試験では毎日2回、9時および16時に急性吸入試験で用いた装置で、84.1 mg/l (約21600 ppm)をそれぞれ10分間曝露したのち、直ちに飼育ケージに戻した。吸入中の症状観察では特に頭部を床に落す(以下 head-drop という)までの時間を測定した。なお対照動物は急性、亜急性吸入試験ともに検体を含まない装置内に同じ時間放置した。

結 果

(1) 急性吸入試験

(1) — 1. Aシンナー

各群ともに吸入開始と同時に自発運動の亢進がみられるが2~3分後には逆に漸次減少し、流延、流涙をみる。その後自発運動は徐々に消失し腹臥状態を示し、呼吸数の減少をみる。head-dropは5分後から始まり、同時に四肢の粗いしんせんを呈する例がある。さらに呼吸数の減少を経てチェーンストークス呼吸を呈し、18分後より呼吸停止を生ずる。各群でhead-dropおよび呼吸停止を最初に生じた例の時間はTable 2に示すとおりで、用量間の相関が認められる。死亡動物数より計算したLC₅₀はTable 3に示す如く128.2 mg/l (約33000 ppm)である。

(1) — 2. トルエン

出現する症状の内容はAシンナーの場合とほぼ同様で、特異症状を認めない。吸入開始後1分から8分までの間に最初のhead-dropが始まり、6分から24分の間に呼吸停止を来すが、低濃度群では用量関係は認められない。LC₅₀は289.0 mg/l (約74400 ppm)である。

(1) — 3. 酢酸エチル

酢酸エチルでもその症状はAシンナーおよびトルエンの場合とほぼ同様であり、吸入開始後4分から12分

Table 3. LC_{50} of thinner, its constituents, and chloroform

	mg/l	LC_{50} ppm
Thinner	128.2 (117.7-185.0)	32868.3 (30176.2- 47430.8)
Toluene	289.0 (225.0-368.0)	74375.3 (57904.7- 94706.3)
Ethyl Acetate	200.0 (180.2-222.0)	53458.2 (48192.6- 59338.6)
Toluene (1) : Ethyl Acetate (4)	312.0 (229.4-424.3)	82926.2 (6.972.0-112774.3)
Chloroform	74.6 (59.7-108.6)	14921.2 (11941.0- 21721.8)

Figures in parenthesis indicate fiducial limits

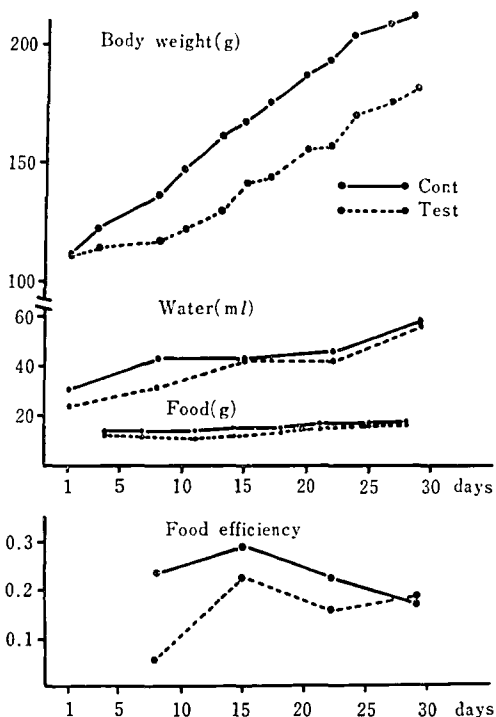


Fig. 1. Growth, food and water consumption, food efficiency

で head-drop が始まり、36分から53分で呼吸停止を呈する。 LC_{50} は 200.0 mg/l (約 53500 ppm) である。

(1)―4. 混合液

症状の内容およびその経過はAシンナーの場合と殆んど変わらない。吸入開始後2分から11分間で head-drop が始まり、13分から60分までに呼吸停止の初発例を認める。この検体の LC_{50} は 312.0 mg/l (約 83000 ppm) である。

(1)―5. クロロホルム

吸入開始と同時に洗顔運動を呈し、強い自発運動の亢進がみられる。30～45秒後には逆に減少し、流延、

流涙をみる。その後自発運動は消失し、腹臥および横臥状態となり呼吸速搏となるが、漸次呼吸数の減少をみる。head-drop は1分30秒から12分30秒の間に始まり、四肢の粗いしんせんを呈する。5分から54分の間に呼吸停止の初発例を認める。また群間に用量関係が認められる。 LC_{50} は 74.6 mg/l (約 12000 ppm) である。

(2) 亜急性吸入試験

(2)―1. 死亡例

処置群においては吸入開始後 17, 18, 26, および 30 日に各々1例の計4例が死亡する。しかし対照群においては死亡する例をみない。なお死亡例はいずれも飼育ケージ内で確認され、曝露中に死亡例をみない。死亡した4例は剖検により2例に肺炎症状を認めるが、他の2例については明らかな変化が見られない。

(2)―2. 体重

体重の変化は Fig. 1 に示すように、実験開始直後、処置群で抑制が現われ、その後対照群との差が開く傾向を示す。1ヵ月後では対照群で初期体重の約1.9倍に達するのに対し、処置群では約1.6倍である。

(2)―3. 摂餌量、摂水量、食餌効率

摂餌量および摂水量は Fig. 1 に示すように対照群と比べ処置群は、全期間を通じて僅かに低い。また各1週間毎の体重と摂餌量との関係を、増加体重量(g)/摂餌量(g)によって計算した食餌効率(food efficiency)は Fig. 1 に示す通りで、処置群は対照群に比べ全般的に低値を示し、特に初期においてその差が著しい。

(2)―4. 一般症状

a. 曝露時の症状

曝露を始めると同時に自発運動が活発となるが、約3分後にはその運動が减弱し、流延がみられる。やや遅れて流涙を生ずる例も時に見られる。その後運動は殆んど消失し、7分前後には明らかな呼吸数の減少が生じ、腹這いあるいはうつくまり状態となり head-drop を呈する。さらに呼吸数が減少し、時に不規則

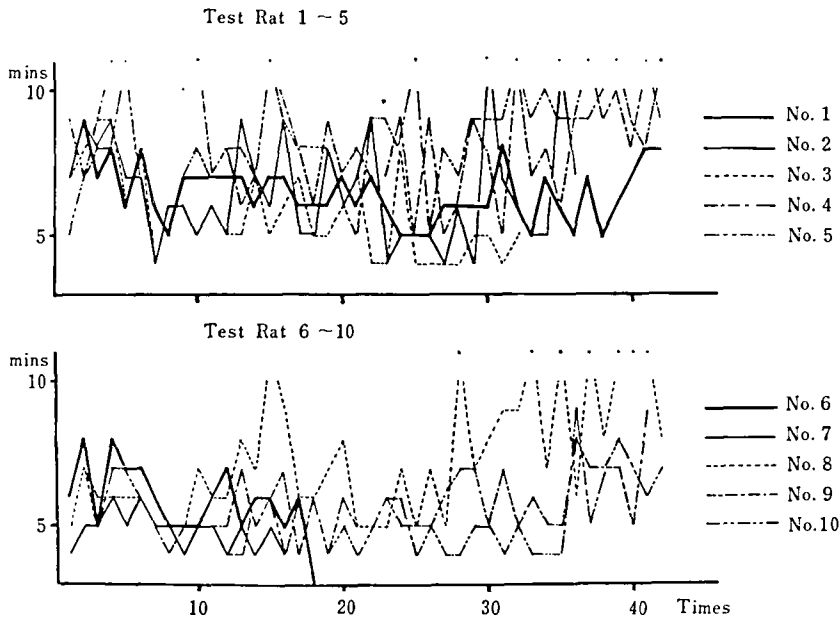


Fig. 2. Changes of head-drop appearance

な呼吸運動を呈する例がある。またこの時期に四肢のやや粗いしんせんを現わす例が多い。このような症状は曝露の回数が増えても殆んど変化がない。

b. 曝露後の症状

曝露容器内から取り出した動物は麻酔状態にあるが、数分以内に四肢のしんせん様運動が始まり、やがて頭部を上げる。その後起き上ろうとするが、この時期には後肢の運動障害が目立ち横倒れを繰返す。起き上った動物は左右いずれかに旋回するものが多く、なお運動障害を残すが、20分前後には殆んど正常状態に復する。

Fig. 2 は処置群各例の head-drop 出現時間を示したものである。図中の各点は出現までに要した時間(分)をプロットしたものであり、10分以内に出現を見ない場合には、10分のレベルを越えた部分に点で示した。全般的に出現時間の長短には個体差の傾向がみられ、短い例では常に短く、長い例は常に長い傾向を示す。また No.5 および No.8 では実験後期にやや出現時間の延長がみられるが、他の例では殆んど差が認められない。

(2)ー5. 血液の形態学的変化

Fig. 3 は赤血球、白血球数およびヘモグロビン量の経時的变化を示したものである。赤血球数は後半期において対照群および処置群ともにやや増加の傾向を認める。ヘモグロビン量は両群ともに後半期に増加する

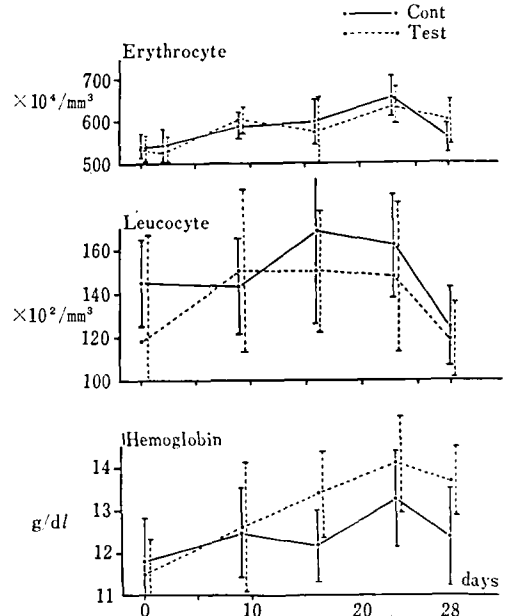


Fig. 3. Hematological changes

傾向を示し、その増加は処置群で特に著しい。白血球数は殆んど変化がないが、最終期(28日目)に低下が両群に認められる。また 10, 17 および 24日目の白血球百分比で、分葉核およびリンパ球に軽度の変動を認

める。リンパ球の減少が特に著しい3例 (No.7, No.6 および No.2) は 17, 18 および30日目に各々死亡した。

(2)―6. 臓器重量

1カ月日に断頭致死させ、諸臓器の重量 (湿重量) を測定した結果は Table 4 に示すとおりである。絶対重量において肝の有意の減少がみられるが、他の臓器には著しい変化をみない。また体重比では肝を含めていずれも著しい差をみない。

(2)―7. 病理組織学的検査

a. 肉眼所見

剖検時において対照群の1例 (No.6) に肝と右腎との癒着を、また処置群の1例 (No.5) で右甲状腺の褐色および他の1例 (No.8) に軽度の右肺横隔膜癒着を認める。その他の動物には変化をみない。

b. 組織学的所見

脳、下垂体、甲状腺、肺、心、肝、腎、脾、副腎および睾丸について検索したが、処置群の1例 (No.5) の脾で軽度のリンパ濾胞の萎縮をみるが、その他は対照群と処置群で殆んど差がなく、また中枢神経系の所見でも特に変化は認められない。

考 察

今回の成績で、Aシンナーの LC_{50} は 128.2 mg/l (約 33000 ppm)、また対比の目的で行ったクロロホルムのそれは 74.6 mg/l (約 12000ppm) であり、Aシンナーの急性毒性はクロロホルムに比べわずかに弱いことが明らかである。また一般にシンナーの主成分とされるトルエンおよび酢酸エチルの LC_{50} は各々 289.0 (約 74400 ppm) および 200.0 mg/l (約 53500 ppm) で、いずれもAシンナーよりも高い値を示した。またこれら両物質の混合液の LC_{50} は 312.0 mg/l (約 33000 ppm) で、併用により毒性の増強は認められなかった。従ってAシンナーの急性毒性はトルエンおよび酢酸エチルと他の薬物との併用による影響、あるいはトルエンおよび酢酸エチルを除く他の成分の影響がより強く現われる可能性を示唆していると見做されよう。

今回用いたAシンナー、トルエン、酢酸エチルおよびクロロホルムは、それらによって起る症状のパターンがいずれも極めてよく類似しており、早期の運動亢進、次いで運動の減弱および消失、流延、しんせん、呼吸障害の経過を示した。これらは一般に麻酔の過程と一致するもので、Aシンナー、トルエンおよび酢酸エチルが、いずれもクロロホルムと同様に麻酔作用を呈することを示すものと見做される。

シンナーの繰返し吸入により、耐性あるいは依存性

Table 4. Organ weights of rats inhaled thinner for one month

Group	No. of animal	Body weight (g)	Brain (g)	Hypo-physis (mg)	Thyroid (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Kidney (g)		Adrenal (mg)		Spleen (g)		Testis (g)	
									left	right	left	right	left	right	left	right
Control	10	217.4 ±26.8	1.78 ±0.01	7.94 ±0.95	15.90 ±2.17	0.76 ±0.01	1.35 ±1.08	10.09 ±1.46	0.92 ±0.17	0.88 ±0.22	28.45 ±5.59	28.60 ±4.88	0.49 ±0.11	1.16 ±0.06	1.20 ±0.08	1.20 ±0.08
Test	6	180.8 ±14.8	1.69 ±0.69	6.25 ±1.89	14.00 ±2.10	0.75 ±0.11	1.27 ±0.28	8.63* ±0.67	0.82 ±0.10	0.84 ±0.09	22.33 ±3.56	26.83 ±2.56	0.51 ±0.14	1.11 ±0.04	1.12 ±0.05	1.12 ±0.05
Relative weight																
Control	10		0.75 ±0.28	3.73 ±0.84	7.38 ±1.12	0.35 ±0.04	0.65 ±0.13	4.64 ±0.24	0.42 ±0.05	0.40 ±0.08	13.10 ±2.19	13.17 ±1.65	0.23 ±0.03	0.54 ±0.05	0.56 ±0.12	0.56 ±0.12
Test	6		0.94 ±0.11	3.50 ±1.22	7.70 ±1.31	0.42 ±0.04	0.71 ±0.20	4.78 ±0.14	0.45 ±0.03	0.46 ±0.03	12.33 ±1.62	14.95 ±2.05	0.28 ±0.08	0.61 ±0.06	0.63 ±0.07	0.63 ±0.07

Figures indicate of average ±SD *: $p < 0.05$ comparison with control

が出現するか否かは、所謂“シンナー遊び”との関連で、大きな関心事である。

今回1日2回、合計42回の曝露を受けた動物で、特に麻酔時間を指標としての耐性出現の有無に注意した。10例中2例で実験の後期にやや麻酔時間が延長する傾向が見られるが、全体として個体差が強く、明らかな結論を得るには至らなかった。Aシンナーの繰返し曝露による一般的な毒性指標では、体重増加の抑制およびリンパ球の減少が明らかであった。特にリンパ球減少の著しい個体はいつでも実験の途中で死亡した。これらの成績は、Aシンナーの繰返し吸入によって、殊に造血組織が障害される可能性を示すものと見られる。途中死亡した動物および1カ月間の曝露を終えた動物はいつでも解剖し、病理組織学的検査を実施

したが、明らかな形態学的変化は認められなかった。

前にも述べたように、市販シンナーの組成は、その製造会社により、また同一会社の製品でも使用目的別に、各々若干の差のあることが指摘されている。今回実験に用いたAシンナーについてもTable 1の分析結果から明かなように、所謂標準組成とは異っていた。従ってすべてのシンナーの毒性像を今回の実験成績によって単純に推定することはできない。しかし、一方トルエンおよび酢酸エチルの両者が、シンナーの主たる成分である点から見て、今回の成績は所謂シンナーの一般的な毒性像と本質的に大きな差があるとは考えられず、今回見られた麻酔作用および造血組織に対する影響が、少くとも急性あるいは亜急性での毒性の主たるものであることが推測される。

ケシの直接抽出に関する研究（第2報）

数地域における生育の特性について

島山好雄・本間尚治郎・大野忠郎・大野昌子

Studies on Cultivation of *Papaver somniferum* L. and Extraction of the Alkaloids. II Growth of *P. somniferum* in Different Districts

Yoshio HATAKEYAMA, Naojiro HOMMA, Tadarō ŌNO and Masako ŌNO

Characteristics of growth of *P. somniferum* L. cv. 'Ikkan' in three climates (Saitama, Wakayama and Hokkaido), and correlations between yields of the capsules and other organs were investigated to analyse the yield components.

1) The yield of fresh capsules of 'Ikkan' in Hokkaido district was 250 kg/10a, about one third of that of Saitama's 830 kg/10a.

The yield of main stem capsules in Wakayama district, where the lateral buds were picked to yield the main stem capsules only, was 620 kg/10a.

2) The ratio of capsule to stem-leaf in Hokkaido and Saitama district was 0.73 and 0.33 respectively.

3) As previous reported, the number of branches was large in the Plot I, and the yield of capsule was high in the Plot II.

The morphine content in the dried capsule, in the both plot, was about 0.25-0.27%.

(4) The capsule yield of *P. somniferum* was analyzed into two components, the number of capsules per unit area and the weight of the capsule.

The weight of the capsule was not varied when the plant was not extremely dense-planted. Therefore, the number of capsules is a more important factor to effect on the yield.

(Received May 31, 1975)

ま え が き

第1報²⁾において慣行の栽植密度より密植した方が果梗付蒴果の収量が多いことを報告した。しかし不間引のような過度の密植は倒伏はなほはだしく、収量も

減少することが判明した。今年は気象条件の異なる3地域（埼玉、和歌山、北海道に所在する薬用植物栽培試験場）における生育・収量を調べ、また春日部試験場では1年目と同様栽植密度の影響も調査したので報告する。

Table 1. Number of plants, growing period and element of fertilizer in three districts

District	No. of plants/10a	Seeding time	Time of harvesting	Growing period (days)	Element of fertilizer/10a (kg)		
					N	P	K
Saitama (Kasukabe)	16,900	Oct. 25, '73	May. 27, '74	214	17.4	11.6	10.7
Wakayama (Hidaka)	14,400	Nov. 11, '73	May. 22, '74	192	13.3	5.9	8.3
Hokkaido (Nayoro)	15,700	May. 10, '74	July. 30, '74	81	28.4	13.8	11.3

実験林料および方法

種子は1973年各場で採取した、我が国における唯一の栽培品種である「1貫種」を供試した。耕種概要は次のとおりで播種期、播種量、施肥、管理、収穫期などは各地域における慣行法に従い、単位面積当たりの株数は3地域共通とした。

春日部試験場：1973年10月25日に10アール当たり260gを条播した。施肥は基肥として10アールに複化成成 8-8-8 を 35 g, 菜種油粕 60 kg を全面に施し、追肥として翌年4月15日に同化成 70 kg, 同油粕 120 kg を与えた。薬剤は石灰ボルドー等量合剤 (6斗式) を4月23日, 5月7, 13, 24日に, ランネート 1,000倍液を4月30日, 5月18日に散布した。

和歌山試験場：1973年11月11日に10アール当たり300gを条播した。施肥は基肥として10アールに石灰 75 kg, 硫安 4.9 kg を施し, 追肥として12月17日に硫安 5.6 kg, 過石 1.8 kg, 硫加 0.5 kg, 翌年2月20日に硫安 5.6 kg, 過石 2.1 kg, 硫加 0.8 kg, 3月25日に硫安 18.7 kg, 過石 11.2 kg, 硫加 7.5 kg, 魚粕 15.0 kg, 大豆粕 22.5 kg, 堆肥 750 kg をそれぞれ与えた。薬剤散布は石灰ボルドー等量合剤 (8斗式) を4月4日に行なった。同場のみ芽かきを4月上旬より適宜行なった。

北海道試験場：1974年5月10日に10アール当たり1,000gを条播した。施肥は基肥として魚粕 100 kg, 菜種油粕 100 kg, 硫安 20 kg, 過石 6 kg, 硫加 5 kg を全面に施用した。追肥は6月10日と7月3日に硫安 55 kg, 過石 20 kg, 硫加 15 kg を分施した。

各地域の栽植密度、播種期、収穫期および3要素の成分量は Table 1 に示した。

春日部試験場においては昨年に引続き、栽植密度が収量その他に及ぼす影響について調査するとともに、収量構成要素を検討するため、Plot I (7,300 株/10a) ・ Plot II (16,900 株/10a) ・ Plot III (7,700 株/10a,

切傷区) の3区分を設け、果数、果重と生体重との関係、分枝数と果重の関係を調査した。

抽出は、乾燥した朔果をクロスピーターミルで 0.5 mm 以下に粉碎し、その 10 g を水 200 ml に24時間浸漬した。なお付記した '73 年の検体 (Table 4) は 50 cm の果梗付朔果を同様に粉碎し、その 150~200 g を 95% メタノール各 1,500, 1,000, 1,000 ml で3回抽出した。モルヒネ含量は前報²⁾と同様 α -ニトロソ- β -ナフトールによる比色法で測定した。

実験結果および考察

異なった3地域における生育期間中の気象条件は Fig. 1 に示すとおりであった。北海道では冬の積雪があるため春播きするので、発芽および初期生育は他地域に比べ高温域下で進む。一方、埼玉および和歌山

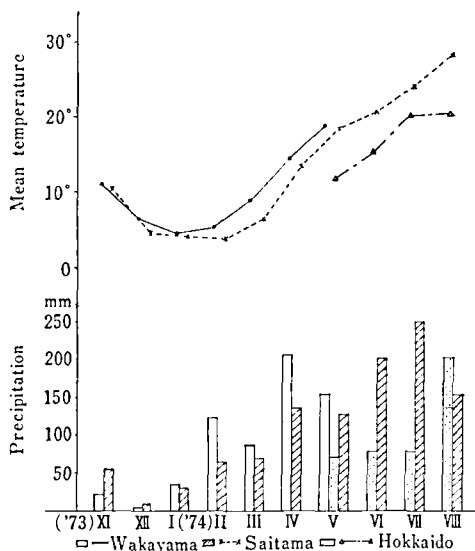


Fig. 1. Condition of temperature and precipitation during growing period in three districts

Table 2. Fresh weights of capsules and morphine contents in different districts

District	Fresh weight of capsule (kg/10a)	Morphine content (%) in dried capsule
Saitama	830	0.28
Wakayama	619	0.21
Hokkaido	249	0.34

では秋播きし、冬期間は非常に緩慢な生育を示すが、気温の上昇とともに生育は旺盛となる。北海道では7月、他の2地域では5月上中旬に開花し、盛花期約2週間で収穫した。各地域における蒴果収量（Table 2 参照）を比較すると埼玉が最も多く、和歌山はこれより少なかった。和歌山の場合は腋芽を摘み、主軸果のみを収穫したが、1株果重は分枝数に左右されるので、腋芽を摘んだことが減収の原因と思われる。

北海道の蒴果収量は非常に少なく、10アール当たり約250 kgで埼玉の約3分の1に過ぎなかった。今年は各地域とも栽植密度は共通としたが、栽培は慣行法によったので、施肥した要素量なども異なり、土壌は埼玉、北海道とも砂壤土でありながら、北海道の施用量は埼玉より多かった、したがって両地域の収量差は、その地域の気候に対する品種の適応性・相異に原因しているのではないかと推測される。「1貫種」は関西地方で選抜・育成された秋播きの品種¹⁾で、これを北海道で栽培すると、比較的高温条件で初期生育が進むとはいえ、生育期間が3カ月足らずと短かいので個体の生育量が小さく、結局収量が低くなるものと思われる。

モルヒネ含量については北へ行くほど少くなると言われる³⁾が、今年の試験では全く逆の結果であった。第3年目に同一の栽培法で育成された検体について再検討する予定である。

次に個体における蒴果への物質配分、イネで言うモミワラ比率を地域別に調べたのがTable 3である。こ

れを見ると寒地の北海道においては蒴果/茎葉比が0.74と大きくイネのモミワラ比に近かった。それに対して埼玉ではわずか0.32に過ぎなかった。特に蒴果/葉比は埼玉に比べ北海道は3倍に近かった。既述のように埼玉では10月下旬に播種し、翌年の5月下旬に収穫するので生育期間が7カ月と長い。ところが北海道では5月上旬に播種し、7月末には収穫するので生育期間が短かく、個体は小さかったが、蒴果/茎葉比は大となった。これは茎葉、特に葉が十分生長しないうちに開花・結果が始まり、果実への物質配分が増加するためと考えられる。

従来、我が国におけるケシの栽培法は切傷によるアヘンの収穫を目的として考えられてきている。直接抽出において蒴果あるいはモルヒネの収量を高める栽培法を確立するため、第一段階として昨年に引続き、栽植密度が収量およびモルヒネ含量におよぼす影響について調査しTable 4の結果を得た。播種直後の豪雨と初期生育中の8日におよぶ無降水により、均一な栽植密度を得ることができなかったが、大体の傾向はつかみ得た。

栽植密度と乾物生産量の間には $Yd^{a-1}=K$ なる式が成立⁴⁾し、 a が小さい疎植の場合には密度を高めると乾物生産が増すが、 a が1に近いような栽植密度になるとその増加は小さくなるという。第1報²⁾において既に述べたように、ケシにおいても単位面積の株数または果数が増えると収量が増加し、10アール当たり約40,000株で最高を示した。間引のように極端に株数が増えるとかえって減収した。

今年も株数の多いPlot IIが少ないPlot Iよりかなり高い蒴果収量を示した。

栽植密度により風乾蒴果中のモルヒネ含量が影響を受けるかどうか調べたところ、'73²⁾、'74年とも密度間にほとんど差異は見られなかった。

以上のことより直接抽出の栽培においては、密植することにより高い収量の得られることが明らかとなった。今後の課題としてはさらに最適栽植密度を決定することが残されている。

'74年のPlot IIにおける10アール当たりの換算モ

Table 3. Relation between weights of capsule and of other organs in different districts

District	Freshweight (g)				Ratio of capsule to the followings			
	capsule	foliage	leaf	stem	peduncle	foliage	leaf	stem
Saitama	64.2	193.3	75.9	117.4		0.33	0.84	0.52
Hokkaido	14.4	19.8	6.3	13.5	5.29	0.73	2.28	1.07

Table 4. Yield of capsule and morphine contents in different planting density
(harvested on May 27, '74 at Saitama)

Plot	Number of plants/10a	Fresh weight (kg/10a)	Air-dry weight (kg/10a)	Morphine content in dried capsule (%)	Yields of morphine (g/10a)
I	7,300	514	77	0.273	210
II	16,900	830	124	0.257	319

Table 5. Yield and morphine content of capsule with peduncle (50 cm)
(harvested on May 28, '73 in control and May 30, '73 in dense)

Plot	Fresh weight (kg/10a)	Air-dry weight (kg/10a)	morphine content in dried capsule (%)	Yield of morphine (g/10a)
Control	942	142	0.198	281
Dense	1,216	182	0.205	373

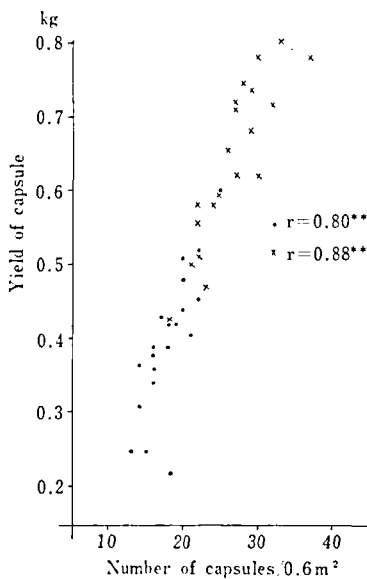


Fig. 2-a. Correlation between number and yield of capsule

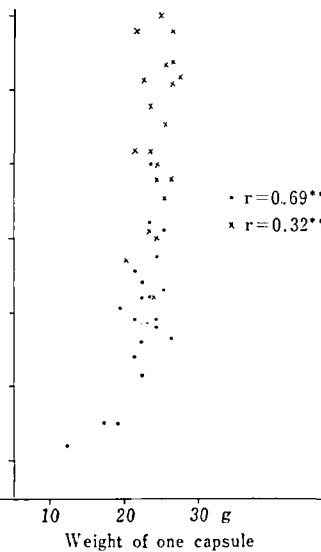


Fig. 2-b. Correlation between weight and yield of capsule

ルヒネ収量は 319 g で、これは和歌山における 1955 ~1973 年⁵⁾ の切傷法による 10 アール当たり平均モルヒネ収量 299 g をやや上回った。'73 年の収量は果梗付蒴果なのでモルヒネ含量は少ないが、換算モルヒネ収量は密植区で 10 アール当たり 373 g と多かった。

切傷法によるアヘンの収量は年次によって豊凶の差が著しく、多い時('74 年)は 10 アール当たり 3.27 kg、少ない時('73 年)は 1.40 kg と変動する。これに対して適期に収穫した蒴果収量とモルヒネ含量はそれほど

変動がないようで、これが直接抽出の大きな利点の 1 つになると思われる。またその栽培においても 1) 芽かきや間引きの労力が節約できる('74 年の調査では全労力・17.7%を占めた)、2) 播種より収穫まで機械化できる作業が多いので、労力が節減され、大規模経営が可能になる、3) 降雨によるアヘンの流去や、早朝の採取などがなくなる等、営農上の利点がより大きいのではないかと推測される。

収量構成要素についてはイネに関する松島の研究⁵⁾

がある。初報⁷⁾では穂重と穂数の2要素とし、後に穂数・1穂顆果数・登熟歩合・玄米千粒重の4要素によって構成され、その相乗積で表わせるとした。ケシの朔果収量の構成要素は、著者らの研究によれば果数と果重の2要素と考えられ、その収量は2要素の相乗積で表わせられると思われる。Fig. 2-a, 2-bによれば単位面積の収量はPlot I, IIのいずれの栽植密度においても、単位面積の果数と高い相関を示した。（各Plotとも0.6m², 20カ所について調査）そして単位面積の収量と平均1果重との関連は栽植密度によって異なり、Plot Iでは $r=0.69^{**}$ と高い相関が得られたのに対し、Plot IIでは $r=0.32$ と相関が見られなかった。株数の少ない場合は、個体は分枝を多く出すことによって果数の確保をはかるか、各果重を大きくすることによって収量を増加し得る。しかしある程度以上株数が多くなると分枝が少なくなかまたは出なくなり、平均

Table 6. Correlation coefficient between capsule and other organs of individual plant

	Fresh weight (g)		
	plant	leaf	stem
Plot I			
Number of capsule	0.81**	0.67**	0.66**
Weight of capsule	—	0.81**	0.79**
Plot II			
Number of capsule	0.80**	0.50**	0.74**
Weight of capsule	0.91**	0.81**	0.90**

1果重は一定となり、収量は果数にのみ左右されるようになる。ただし過度の密植になると、果重が極端に小さくなり果数が多くても減収になることは第1報²⁾の不問引区に見られたとおりである。

Table 6, 7 は個体について、朔果と地上部各器官

Table 7. Weights of capsules and branching in different planting density

	Main stem capsule			rate* ³ (%)	First branch capsule* ²		
	weight* ¹ (g)	length (cm)	width (cm)		weight (g)	length (cm)	width (cm)
I	34.6	7.85	4.77	100	24.6	6.74	3.96
II	33.4	7.76	4.86	72	22.8	6.71	4.13
III (Incision)	50.4	8.37	5.79	—			

Second				Third				Fourth			
rate	weight	length	width	rate	weight	length	width	rate	weight	length	width
72	21.9	6.49	3.74	37	19.4	6.29	3.85	20	18.1	6.34	3.39
45	20.5	6.32	3.80	27	15.6	5.94	3.38	2	18.0	6.12	3.44
—				—				—			

Fifth				Sixth				Total weight of capsule (g/plant)	Number of branch per plant	weight of one capsule (g)
rate	weight	length	width	rate	weight	length	width			
10	13.6	5.60	3.13	2	5.0	4.19	2.10	87.2	2.4	25.6
2	15.0	5.68	3.30	—				64.2	1.5	25.7
—				—				50.4	0	50.4

*¹ Fresh weight of capsule in which immature seed

*² Numbered branches from high node order to low

*³ Ratio of number of branched plants to all

との関連および 1 朔果についての特性を調べ、収量と果重との関連を見出そうとしたものである。Table 6 によれば、1 株当たりの果数と果重はいずれの栽植密度においても茎葉重と高い相関が見られた。果数および果重を増やすには株を大きく育てる必要があり、特に Plot II においてこの傾向が強かった。では個体の果重と果数との関係はどうかを見ると、Plot I で $r=0.82^{**}$ 、Plot II で $r=0.90^{**}$ と非常に高い相関が得られた。すなわち果数を増すことによって個体当たりの朔果重を高められることが分った。しかし密植にすれば 1 株果数が減ることは Table 7 のとおりである。Plot III (切傷区) では腋芽を摘むため各株とも主軸果のみ着生し、その朔果は大きく 1 株果重、平均 1 果重とも約 50 g を示した。Plot I ではほとんど全部の株に第 2 分枝まで発生し、2% の低率ながら第 6 分枝の発生した株も見られ、平均分枝数は 2.4 本、1 株果重は 87 g で 3 区中最高を示した。これに対して Plot II では平均分枝数 1.5 本、1 株果重は 64 g であったが、Plot I, II とも 1 果当たり平均重は約 26 g と同様であった。個体の果重を増加するには分枝を多くすればよいが、しかし平均 1 果重は増加しないわけである。

ここで収量とその構成 2 要素の関連を考えると、収量は単位面積の果数が多くなると増加する。一方切傷区のように平均 1 果重が大きいものでも果数が少ないため収量は減少する。また Plot I, II で平均 1 果重に差がないにも関わらず、収量は相当異なるということは、構成 2 要素の中、収量により密接な関係があるのは果数であると考えられる。

摘 要

気象条件の異なった 3 地域における生育の特性を調

べた。また収量構成要素を分析するため、朔果と他器官との相関を調べた。

1. 「1 貫種」の 10 アール当たり朔果生収量は、寒冷地の北海道では 250 kg で、埼玉の 830 kg に比べて著しく少なく、約 3 分の 1 であった。和歌山では腋芽を摘み、主軸果のみの収量が 620 kg であった。
2. 個体における朔果/茎葉比は北海道で 0.73 と大きく、埼玉は 0.33 と小さかった。
3. 第 1 報と同様、分枝数は株数の少ない Plot I で多く、収量は株数の多い Plot II で著しく高かった。風乾朔果におけるモルヒネ含量は Plot I 0.273%, Plot II 0.257% であった。
4. 朔果収量は果数と果重の 2 要素から構成されている。過度の密植でない限り、平均 1 果重はほぼ一定しているので、収量高めるには単位面積の果数を増やすことが必要と思われる。

本試験にあたり終始御指導頂いた小島康平場長、西孝三郎室長ならびにモルヒネ定量に御協力頂いた薬品部島峰望彦、高橋一徳両技官に深謝いたします。

文 献

- 1) 川谷豊彦, 藤田早苗之助 : 衛生試験, 75, 151 (1957)
- 2) 島山好雄・大野忠郎他 : 衛生試験, 92, 32 (1974)
- 3) T.V. Ilinskaya, M.G. Yosibova : *Bulletin on Narcotics*, 8 (3), 38 (1956)
- 4) Kira et al. : *Jour. Inst. Polytech. Osaka city Univ.*, D:4, 1 (1953)
- 2) 木下孝三, 大野忠郎 : 場長会議資料 (1955~1973)
- 6) 松島省三 : 農技研報告 A(5), 1 (1957)
- 7) 松島省三, 澄田康治 : 島根県農試彙報研究 354 (1939)

二波長クロマトスキャナによる安息香酸 ナトリウムカフェイン製剤の定量 (第 3 報)

井上哲男・立沢政義・橋場茂子

Determination of the Sodium Benzoate-Caffeine in Pharmaceutical Preparations by the Dual-wavelength Chromatoscanner. III

Tetsuo INOUE, Masayoshi TATSUZAWA and Shigeko HASHIBA

A simple method for the determination of sodium benzoate and caffeine in the pharmaceutical preparations was studied. The substances were extracted from the preparations with ethanol and separated by thinlayer chromatography. Each spots on the plate was determined with Dual-wavelength Chromatoscanner.

(Received May 31, 1975)

緒 言

安息香酸ナトリウムカフェインは、中枢興奮、強心利尿剤として常用されているが感冒剤にも配合される場合がある。

混合製剤の定量でUV法は、共存成分の影響を受けやすく適用することは出来ない。従って通常比色法を用いるが、現在安息香酸の比色法による良い方法がないため複雑な混合製剤の場合、定量が不可能であった。

またカフェインは、比色法でも定量可能であるが混合製剤の場合、複雑な前処理および呈色操作を必要とする^{1,2)}。

TLC 法で分離後二波長ジグザグスキャナを用いてUV法で測定すれば比較的複雑な混合製剤でも各成分の簡易定量が可能である。著者らは、二波長クロマトスキャナ法により分離定量を行ない良好な結果を得たので報告する。

キーゼルゲルを吸着剤としてエーテルで展開し、分離した各スポットにつき吸光度を測定し定量する。

測定波長は、安息香酸ナトリウムは360nm-230nm、カフェインは360nm-275nmの二波長を用いて吸光度を測定し定量した。

実験方法および結果

1. 試料、試薬、試液および装置

安息香酸ナトリウムカフェイン (Bz-Cf)、安息香酸ナトリウム (Bz)、カフェイン (Cf)、アミノピリン (Am)、フェナセチン (Ph) (以上日本薬局方品)

薄層板：キーゼルゲルガラスプレート、(Kieselgel

60 F₂₅₄、けい光剤入り、厚さ 0.25 mm., メルク社製)

展開溶媒：エーテル

島津二波長クロマトスキャナ C S 900 型

付属品：リニャライザー、ベースライン補正装置

2. 分離定量

(i) 安息香酸ナトリウムカフェイン中の安息香酸ナトリウムおよびカフェインの定量

a. 標準溶液

Bz 標準溶液：Bz 100 mg をとり、70% エタノールを加えて溶かし 25 ml とする。この液の 2, 4, 6 および 8 ml/ずつをとり 70% エタノールを加えて 10 ml とし、標準溶液とする。

Cf 標準溶液：Cf 100 mg をとり、70% エタノールを加えて溶かし 25 ml とし、Bz 標準溶液と同様に操作し標準溶液を調製する。

b. 試料溶液

Bz-Cf 200 mg をとり 70% エタノールを加えて溶かし 25 ml とする。この液の 4 ml および 6 ml をとり 70% エタノールを加えて 10 ml とし、試料溶液とする。

c. 薄層クロマトグラフ法による分離

標準溶液および試料溶液の 5 μ l ずつをマイクロキャピタル (DRUMMOND 社製) を用い、それぞれスポットする。エーテルを展開溶媒として上昇法によい、20° で 10 cm の高さまで展開する。展開後プレートを取出し、風乾後紫外線照射器によいスポットの位置を確認する。

d. 走査および積分値の測定

二波長クロスキャナに薄層板を固定し、下記の測定条件により薄層板を走査し、紫外部吸収法により測定する。

測定条件

測定方式：ジグザグスキャンニング

スリット：1.25 mm × 1.25 mm

走査速度：10 mm/1 分間

記録紙速度：10 mm/1 分間

測定波長： λ_R 360 nm

λ_S : Bz 230 nm, Cf 275 nm

リニャライザー：sx=3(A)

(ii) 製剤中の安息香酸ナトリウム、カフェイン、フェナセチンおよびアミノピリンの定量

a. 標準溶液

Bz 標準溶液：Bz 100 mg をとり、70% エタノールを加えて溶かし 25 ml とし、これを標準原液とする。この 5 ml をとり 70% エタノールで 10 ml とし標準溶液とする。(2 mg/ml)

Cf 標準溶液：Cf 50 mg をとり、70% エタノールを加えて溶かし 25 ml とし、これを標準原液とする。この 5 ml をとり 70% エタノールで 10 ml とし標準溶液とする。(1 mg/ml)

Am 標準溶液：Am 100 mg をとり、エタノールを加えて溶かし 25 ml とし、これを標準原液とする。この 5 ml をとり 70% エタノールを加えて 10 ml とし標準溶液とする。(2 mg/ml)

Ph 標準溶液：Ph 165 mg をとり、エタノールを加えて溶かし 25 ml とし、これを標準原液とする。この液 2 ml をとり 70% エタノールを加えて 10 ml とし標準溶液とする。(1.32 mg/ml)

b. 試料溶液：試料約 0.65 g を精密に秤り、70% エタノール 15 ml 7 ml を加えてふりまぜ、加温して溶かし、冷後 70% エタノールを加えて 25 ml としたのちろ過する。ろ液をそれぞれの標準溶液に合わせて希釈して試料溶液とする。

c 薄層クロマトグラフ法による分離

(i) c と同様に操作する。

d 走査および積分値の測定

(i) d と同様に操作する

3. 定量条件の検討

a. 展開溶媒の検討

Bz のような塩が配合されている場合、展開溶媒として繁用されている混合溶媒、特に酢酸含有の溶媒を用いるとプレート中に段階フロントを形成し、扁平なスポットとして現れる。このようなことを防ぐ為に単一な溶媒、エーテルを選び多少のテーリングはあるが、

その時はスポットを縦にスキャンニングすることによって良い結果を得た。

又、10 cm の展開では製剤中に配合されるノスカピンと安息香酸ナトリウムのスポットがつながり、カフェインもアミノピリンとつながることがあるので、13 cm まで展開した。その時のおよその R_f 値は、Bz (0.88)、ノスカピン (0.72)、Ph (0.52)、Am (0.24)、Cf (0.10) マレイン酸クロルフェニラミンおよび塩酸エフェドリンは原点にとどまった。

b. 検量線

Bz：標準原液の 3, 5, 7 ml をとり 70% エタノールで 10 ml に希釈した液および標準原液を標準溶液とした。

Cf：標準原液の 1, 3, 5, 7 ml をとり 70% エタノールで 10 ml に希釈した液を標準溶液とした。

Am：標準原液の 1, 3, 5, 7 ml をとり 70% エタノールで 10 ml に希釈した液を標準溶液とした。

Ph：標準原液の 1, 2, 3, 4 ml をとり 70% エタノールで 10 ml に希釈した液を標準溶液とした。

各標準溶液の 5 μ l をスポットし、エーテルで展開後各スポットによる吸光度の積分値を測定し、その結

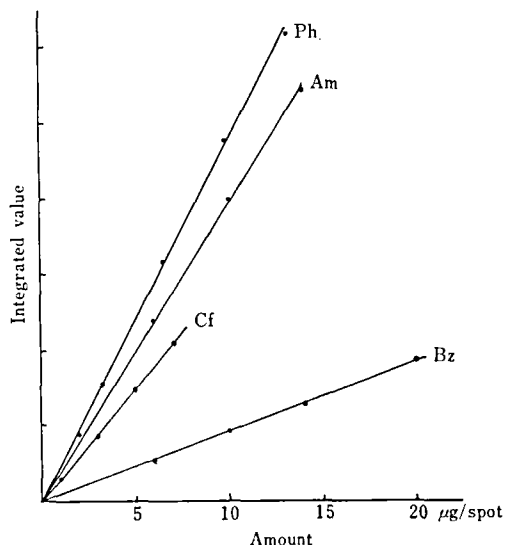


Fig. 1. Calibration curves of sodium benzoate, caffeine, aminopyrine and phenacetin

Absorbent: Kieselgel 60 F₂₅₄

Solvent: Ether

Wavelength:

Sodium Benzoate: 360 nm-230 nm (Bz)

Caffeine: 360 nm-275 nm (Cf)

Aminopyrine: 360 nm-270 nm (Am)

Phenacetin: 360 nm-250 nm (Ph)

Linearization Program SX=3

果を Fig. 1 に示す

4. 調製試料および市販の安息香酸ナトリウムカフェインの定量

日本薬局方収載の Bz-Cf は、Bz と Cf の 1:1 の分子化合物であり、Bz と Cf のそれぞれ同量のとり調製した試料および市販の Bz-Cf につき、2.(i) により定量した結果を Table 1 に示す。

Table 1. Determination of sodium benzoate and caffeine in the sodium benzoate-caffeine

	Recovery (%)	
	Mixed Samples	Commercial Samples (JP)
Caffeine	101.2	48.8
	101.5	48.4
Sodium Benzoate	98.9	49.7
	99.4	50.3
Mixed sample: Sodium Benzoate: Caffeine (1:1)		
Absorbent: Kieselgel 60 F ₂₅₄		
Solvent: Ether		
Wavelength: Sodium Benzoate 360 nm-230 nm		
Caffeine 360 nm-275 nm		

5. 製剤の定量

日本薬剤師会指定処方の中にある Bz-Cf 配合の処方、二種類を選んで試料を調製し、Bz, Cf, Am, Am, Ph の定量を 2(ii) により定量した結果を Table 2 に示す。

Bz の吸収が低波長にあり、感度が低いため試料溶液の濃度を大にする必要があるが、Bz-Cf は有機溶媒に難溶性であるから試料秤取量を増すことが出来なかった。したがって試料秤取量は少なくし、スポット量を大とし (5 μ l) 分離定量を行なった。又他の配合薬品はそれぞれの薬品に適した濃度を選び、検液を希釈

Table 2. Determination of sodium benzoate, caffeine, phenacetin and aminopyrine

	Recovery (%)	
	I	II
Sodium Benzoate	50.1	51.8
	51.7	51.2
Caffeine	53.1	53.9
	49.8	47.4
Phenacetin	100.5	99.5
Aminopyrine	98.7	—

Sample I: Aminopyrine 150 mg, Phenacetin 500 mg, Sodium Benzoate-Caffeine 300 mg, Chlorpheniramine maleate powder 700 mg, Noscapine 30 mg, dl-Methylephedrine HCl 50 mg, Starch 1.22 g

II: dl-Methylephedrine HCl 50 mg, Sodium Benzoate-caffeine 300 mg, Phenacetin 1 g, Starch 650 mg

して定量を行なった。

結 語

二波長クロマトスキャナ法による安息香酸ナトリウムカフェインおよびこれを配合した混合製剤中の安息香酸およびカフェインの定量を行なった。

通常混合製剤中の安息香酸の定量は困難であるが本法により精度良く分離定量が可能となった。

文 献

- 1) 医薬品製造指針 (解熱鎮痛剤試験法), p. 484 (1973)
- 2) R. Bontemps: *Pharm. Acta. Helve.*, 35, 128 (1960)

医薬品の溶出試験法に関する研究 (第1報)

メプロバメート錠の崩壊および溶出試験

植岡澄子・岡 恒・持田研秀

Studies on the Dissolution Test of Drugs. I
Disintegration and Dissolution of Meprobamate Tablets

Sumiko UEOKA, Hisashi OKA and Kenshu MOCHIDA

When the iodine liberated from the reaction of meprobamate, sodium hypochlorite and potassium iodide was determined colorimetrically, 60 v/v% was found more suitable as the concentration of ethanol in reaction than 88 v/v% stipulated in USP XVIII.

The dissolution rates of commercial meprobamate tablets that were analyzed by the modified colorimetry were measured in the USP XVIII dissolution apparatus and JP8 disintegration apparatus.

Using USP XVIII dissolution apparatus, there was a close rank-order correlation between dissolution and disintegration of meprobamate tablets.

(Received May 31, 1975)

まえがき

すでに緩和剤精神安定薬として良く知られているメプロバメート錠剤の溶出試験法は USP XVIII に記載されている¹⁾。著者らは昭和49年度一斉収去にあたり、USP XVIII 記載の遊離ヨウ素による比色法をメプロバメート製剤に適用したところ、エタノール濃度が呈色に大きく影響することを認めた。そこで、その要因を確かめ、若干の改良を加えたので報告する。さらに溶出試験を行ない、製剤の崩壊試験と溶出試験の相関性について考察した。

実験方法

1. 試料および試薬

局方メプロバメート：原末（第一製薬）

メプロバメート錠剤：市販のA, B, C, D社の裸錠およびC社のフィルムコーティング錠をもちいた。それぞれ1錠中にはメプロバメート 200 mg を含有する。

メプロバメート標準液：局方メプロバメート約 20 mg を精密に量り、水 100 ml に溶かし、標準液とする。（約 0.2 mg/ml）

試料液：メプロバメートの濃度が約 0.2 mg/ml になるように調製する。

0.05 M ホウ酸緩衝液：ホウ酸 3.1 g と塩化カリウム 3.7 g を水約 900 ml に溶かし、2 N 水酸化ナトリウム液で pH 10.5±0.1 に調整し、水で全量を 1,000 ml とする。

次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) 液：市販 10% 次亜塩素酸ナトリウム溶液（アンチホルミン）1.0 ml を 0.05 M ホウ酸緩衝液で全量 60 ml とする。しゃ光して保存する。用時調製する。

フェノール液：フェノール 5.0 g を 0.1 N 塩酸で全量 1,000 ml とする。

1% ヨウ化カリウム (KI) 液：ヨウ化カリウム 1.0 g に水を加えて溶かし、全量 100 ml とする。しゃ光して保存する。用時調製する。

ヨウ素：昇華法により精製した。

2. メプロバメートの比色法および I₂-KI 錯体の吸収スペクトル

2-1. 遊離ヨウ素による比色法：50 ml のかつ色メスフラスコにメプロバメート試料液 1 ml および NaClO 液 2 ml を正確に、注意深くフラスコの底に入れ、穏かに振り混ぜ栓をし、正確に 20 分間放置する。ついでフェノール液 2.0 ml をフラスコの首から洗い込み、よく振り混ぜ栓をして正確に 5 分間放置したのち、1% KI 液 1.0 ml を加えて振り混ぜる。直ちに約 69 v/v% エタノール（または適当な濃度のエタノールおよび水）を加えて全量 50 ml とする。このとき、エタノールの最終濃度は約 60 v/v% となる。これを 30 分間放置したのち、極大波長における吸光度を日立分光々度計 181 型または島津マルチコンバーチブル分光々度計 Double-40 DF 型を用いて測定した。別に標準液も同様の方法で処理し、試料液のメプロバメートの濃度を算出した。

2-2. I_2 -KI 錯体の吸収スペクトル

ヨウ素約 10 mg を精密に量り、無水エタノールを加えて溶かし、全量 100 ml とする。その 5 ml を正確にとり、1 N KI 液 1.0 ml を加え、適当なエタノール濃度になるようにエタノールを加え全量を 50 ml とし、吸収スペクトルを測定した。なお、 I_2 -KI 水溶液はヨウ素約 10 mg を精密に量り、1 N KI 液 20.0 ml を加えて溶かし水で全量 100 ml とし、それを 10 倍希釈した。

3. 溶出試験法

3-1. JP8 崩壊試験器を用いる方法：JP8 の崩壊試験法²⁾にしたがい、補助盤を用いて溶出試験を行なった。試験液に水 850 ml を用い、一定時間の間隔で 1 ml のホールピペットの先端にガラスフィルター (G2) を付けて溶出液を採取し、直ちに同量の試験液を補充する。採取した溶出液を適当に希釈して比色法により溶出量を算出した。

3-2. USP XVIII 溶出試験器を用いる方法：USP XVIII 溶出試験法^{1,3)}にしたがい、攪拌速度 91 rpm、試験液として水 900 ml を用い、3-1 と同様の方法で溶出液を採取し、比色法により溶出量を算出した。

4. 崩壊試験法

4-1. JP8 崩壊試験器を用いる方法：6個の錠剤の残留物を網上に認めなくなったときを崩壊時間とした。

4-2. USP XVIII 溶出試験器を用いる方法：バスケット内に錠剤の残留物を認めなくなったときを崩壊時間とした。

実験結果と考察

1. 呈色におけるエタノールの影響について

Zappala ら⁴⁾ はパンテノールを次亜塩素酸でクロールアミンにして、そのクロールアミンが KI からヨウ素を遊離するとき、エタノールの濃度は呈色の強さおよび安定性に影響することを認め、88 v/v% エタノールでの呈色が最も安定であり、低濃度のエタノールでは吸光度が低く、経時的に退色することを報告した。さらに Poole ら⁵⁾ はこの方法をメプロバメートの比色法に適用した。また USP XVIII の追補¹⁾ で、Poole らのメプロバメート比色法が採用されている。

しかし、USP XVIII の方法¹⁾ では、呈色に大きなばらつきが見られ、空試験も同様にばらつきが見られた。そこで、生成物である I_2 -KI 錯体の種々のエタノール濃度における吸収スペクトルを測定し、経時変化も検討した。Fig. 1 に示すように、エタノール濃度が増すにしたがい吸収極大はわずかに長波長にシフトする。さらに、一週間にわたる経時変化では、吸収極大

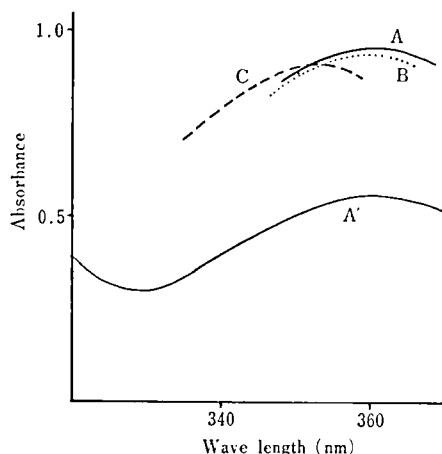


Fig. 1. Absorption spectra of iodine-potassium iodide

Concentration of iodine in 0.33 w/w% potassium iodide solution

A: 9.5×10^{-3} mg/ml in absolute ethanol
A' (KI none): 9.5×10^{-3} mg/ml in absolute ethanol

B: 9.5×10^{-3} mg/ml in 60 v/v% ethanol
C: 1.01×10^{-2} mg/ml in water

に変化は見られなかったが高濃度のエタノールほど吸光度は増加し、光によって助長された。一方、 I_2 -KI 錯体はエタノール中よりも水溶液の方が比較的安定であったが、一週間後には、わずかに吸光度の低下をみた。また、フェノールを含む酸性の種々のエタノール濃度における I_2 -KI 錯体の吸収極大は Fig. 1 に示す中性のときと同様であった。しかし、経時変化については約 pH 3 の酸性条件下では、高濃度のエタノールほど吸光度は急激に増加した。フェノールを含む水溶液のときは、フェノールがヨウ素化されるために吸光度は減少することが認められた。

そこで、メプロバメートの比色におけるエタノールの影響を検討した。Zappala らのパンテノールの場合と異なり、Fig. 2 に示すようにエタノールが高濃度のとき経時的にメプロバメートの呈色の吸光度が増加し、低濃度では吸光度が減少する。そしてエタノールがほぼ 60 v/v% のとき比較的安定であることがわかった。また、空試験も同様な結果を示した。なお 60 v/v% エタノールでのメプロバメートの呈色の吸光度は 88 v/v% エタノールに比較してわずかに低かった。しかし、両者での 30 分間反応時の空試験値を差し引いた検液の呈色値は余り違いがなかった。

メプロバメートは 0~0.27 mg/ml の濃度範囲で、Beer の法則にしたがい、標準液 18 回の定量結果の変動係数は 1.34% であった。

2. 溶出試験および崩壊試験について

溶出試験および崩壊試験の結果を Table 1 に示す。

JP8 の崩壊試験器を用いたときの崩壊時間は補助盤による強制崩壊にもかかわらず USP XVIII 溶出試験器を用いたときよりも長くなっているものもある。

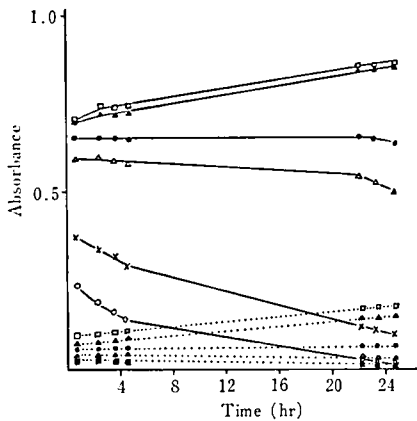


Fig. 2. Effect of ethanol concentration on meprobamate colorimetry

—: 4.0×10^{-3} mg Meprobamate/ml

...: Blank

Ethanol concentration

□: 88 v/v%, ▲: 80 v/v%, ●: 60 v/v%

△: 40 v/v%, ×: 20 v/v%, ○: 0 v/v%

Table 1. Dissolution and disintegration of commercial meprobamate tablets in water at 37°C

Tablet	Disintegration apparatus		Dissolution apparatus	
	D.T. (min) ^{a)}	T ₆₀ (min) ^{b)}	D.T. (min) ^{c)}	T ₆₀ (min) ^{b)}
A	14	6.5	15	8.0 ± 0.0 ^{d)}
B	21	15.5	19	12.6 ± 0.0
C-1	3	6.2	10	7.7 ± 2.1
C-2	17	12.5	—	60.6 ± 11.5
D	15	4.8	14	8.6 ± 0.8

a) D.T. indicates disintegration time of all six tablets

b) T₆₀ indicates the time required to dissolve 60% of the labeled amount of meprobamate in the tablets

c) D.T. indicates disintegration time of one tablets

d) Average ± S.D. (n=3)

A, B, C-1, D: Meprobamate tablets (200 mg/tablet). C-2: Film coated meprobamate tablets (200 mg/tablet)

USP XVIII の溶出試験器を用いたときは1個の錠剤が崩壊した時間を示すが、バスケットの中では観察がしにくいので、1回の測定にとどめた。

市販メプロバメート製剤の溶出時間は製剤の表示量の60%の溶出に要する時間で示した。

USP XVIII の溶出試験器を用いたとき、A, B, C, D 社の裸錠は溶出時間のばらつきが小さく、C 社のフィルムコーティング錠はばらつきが大きくなった。フィルムコーティング錠はメプロバメート 100% 溶出時においてもフィルムが半分に裂けた状態で残存し、中味が流出あるいは溶出していた。さらに、錠剤は一般にバスケット内の網上でバスケットと一緒に回転し、衝撃を受ける度合いが小さい。そのためフィルムコーティング錠の場合は崩壊時間および溶出時間が長くなり、ばらつきも大きくなると考えられる。Fig. 3, 4 に示すように、A, C, D 3 社の裸錠の溶出曲

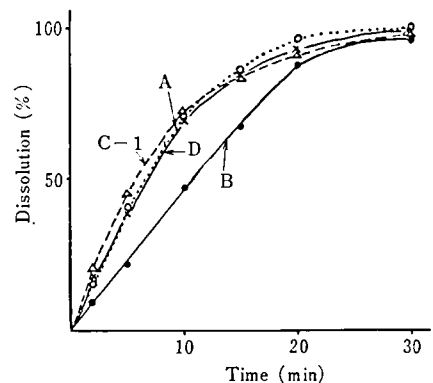


Fig. 3. Dissolution rates of commercial meprobamate tablets using USP XVIII dissolution apparatus

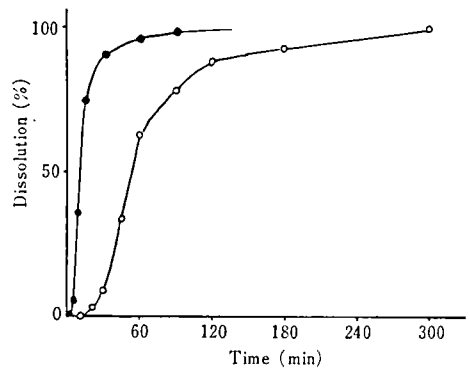


Fig. 4. Dissolution rates of commercial film coated meprobamate tablets

○: USP XVIII dissolution apparatus

●: JP8 disintegration apparatus

線はほぼ同じ傾向であったが、B社の錠剤はやや遅れて溶出した。一方、JP8の崩壊試験器の場合の溶出曲線はFig. 3と類似するが、フィルムコーティング錠のみはFig. 4に示すように速く溶出している。

製剤の崩壊時間および溶出時間の速さの順位を付けて、スピアマンの順位相関係数 r_s を計算し、Table 2に示した。この相関係数はデータの分布に無関係で、測定方法によって製剤に対する評価がどの程度一致しているかを示すものである。

装置の違い、崩壊試験法と溶出試験法の違いなどに

Table 2. Rank-order correlation coefficients for dissolution and disintegration of commercial meprobamate tablets

	Disintegration apparatus T_{60}	Dissolution apparatus D.T.
Disintegration apparatus D.T.	+0.88	+0.94
Dissolution apparatus T_{60}	+0.91	+0.97

よる製剤評価の順位相関係数はいずれについても良い一致を示した。USP XVIII 溶出試験器による溶出試験と崩壊試験の相関性は非常に良い結果を得た。

結 論

メプロバメートの遊離ヨウ素による比色法に影響をおよぼすエタノールの濃度について検討し、比色法を若干改良した。

改良比色法を用いて溶出試験を行なった。崩壊試験と溶出試験の違い、装置の違いなどによる製剤評価の順位相関係数を算出し、USP XVIII 溶出試験器による溶出試験と崩壊試験は非常に高い相関性を示した。

文 献

- 1) USP XVIII, 1st Supplement, p. 19 (1971)
- 2) 第八改正日本薬局方第一部, p. 842 (厚生省) (1971)
- 3) USP XVIII, p. 934 (1970)
- 4) A.F. Zappala, C.A. Simpson: *J. Pharm. Sci.*, 50, 845 (1961)
- 5) J.W. Poole, G.M. Irwin, S. Young; *J. Pharm. Sci.*, 60, 1850 (1971)

ポリアミド薄層電気泳動—デンストメトリーによる 市販整腸剤中のタンニン酸ベルベリンの定量

野口 衛・持田研秀

Polyamide Thin-layer Electrophoresis-densitometry for the Determination of Berberine Tannate in Pharmaceutical Formulation

Mamoru NOGUCHI, Kenshu MOCHIDA

Polyamide thin-layer electrophoresis was found to be a satisfactory procedure for separating berberine (I) from other coexistent substances, e.g., acrinol, chlorphenylamine, methylscopolamine and tannic acid in the formulation.

Electrophoresis was carried out at 20° by applying a constant voltage of 900 V with 5 N acetic acid as the electrolyte.

"I" was determined densitometrically by fluorescence reflection mode at an excitation wavelength of 365 nm and emission wavelength of 550 nm. Recoveries of fortified were 95-103%.

This method may be also applicable on the determination of acrinol in the formulation which contain many basic pharmaceuticals.

(Received May 31, 1975)

ま え が き

薄層クロマトグラフィー—デンストメトリーによる定量法は近年、製剤や生薬の分析に広く用いられて^{1-3,7)}、簡便な分析法として評価されている⁴⁾。しかし、総合

感冒剤や胃腸薬中に配合される合成あるいは天然の塩基性薬物は通常の薄層クロマトグラフィーでは分離できないことが多い。

著者らは、さきにポリアミド薄層電気泳動が構造の類似したベルベリン型アルカロイドの分離に有力な手

段となることを明らかにした⁵⁾。そこで本報ではその応用として、同法とデンストメトリーを組み合わせ、多種の塩基性薬物を含有する市販整腸剤中のベルペリンの定量を行なった。

分 析 方 法

1. 装置

定電圧発生装置 Model 20 TR (エムエス機器), 冷却ブロック付電気泳動チェンバー (Desaga), 冷却装置 TE-106 (シャープ) 二波長クロマトスキャナー CS-900 (島津)

2. 試薬

塩化ベルペリン, タンニン酸ベルペリン, アクリノール, マレイン酸クロルフェニラミン, 臭化メチルスコポラミン, タンニン酸 (試薬特級) を再結晶し, メタノール・5N酢酸 (1:1) 混液に溶かしたものを標準液とした。薄層用プレート: ポリアミドレヤー・シート (生化学工業), 電解液: 5N酢酸

3. 試料

市販整腸剤一種

処方 (3錠中)

タンニン酸ベルペリン 120 mg

アクリノール 30 mg

マレイン酸クロルフェニラミン 3 mg

臭化メチルスコポラミン 1 mg

合成ケイ酸アルミニウム 300 mg

4. 方法

(1) 確認法: あらかじめ 5 N 酢酸を浸潤させたポリア

ミドシートをガラス板上にのせ, 薄層電気泳動装置に入れ, 陽極側プレート末端附近の原点部分に標準液あるいは試料溶液 1 μ l をガスクロマトグラフ用マイクロシリンジを用いて滴下する。電解液として 5 N 酢酸を用い, 電圧 900 V (電流値 4 mA) 温度 20~25° で 3 時間泳動を行なう。

泳動後のプレートは一夜放置後, ベルペリンおよびアクリノールは紫外線照射下の蛍光で, タンニン酸は 1% 塩化鉄酢酸 1% 溶液をまた臭化メチルスコポラミンは塩化白金ヨウ化カリウム試液を噴霧して確認した。

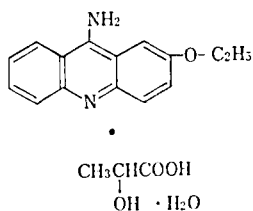
(2) 定量法: 錠剤 10 個をとり, その重量を精密に量り粉末とする。粉末約 190 mg を精密に量り, 5 N 酢酸メタノール (1:1) 混液でメスコルペンに洗いこみ, 可溶物を溶かし, 正確に 25 ml とする。この液をろ過, はじめのろ過 10 ml 液をすてつぎの 7 ml を正確に量りさきと同じ混液で正確に 10 ml とした。別に塩化ベルペリン 0.3664 μ g/ μ l, 0.3053 μ g/ μ l の標準液を調製し, 検液および標準液それぞれ 1 μ l を同一プレート上にスポットし, 展開し, 乾燥後, 反射法, ジグザグスキャンニングで蛍光強度を測定した⁵⁾ (λ_{ex} 365 nm, λ_{em} 550 nm)。

ベルペリンのタンニン酸ベルペリンへの換算係数としては, 市販タンニン酸ベルペリン中のベルペリン含量平均値 31.332 を用いた。

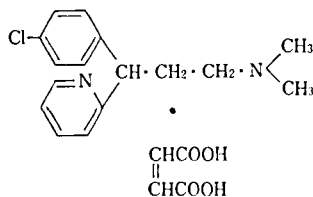
実験結果および考察

1. 錠剤中に含まれる各種薬物の薄層電気泳動

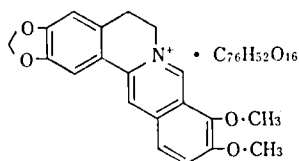
本錠剤中には下記の如く塩基性 4 種, 酸性 3 種の薬



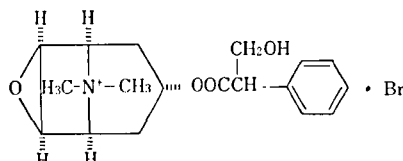
アクリノール
(I)



マレイン酸クロルフェニラミン
(III)



タンニン酸ベルペリン
(II)



臭化メチルスコポラミン
(IV)

物が含まれている。そこでまず、これらの物質のポリアミド薄層電気泳動時の挙動を検討した。

Fig. 1は3時間泳動後の各物質の位置を示したものであり、塩基はすべて陽極方向に移動するのに対し、タンニン酸は原点にとどまった。

スポットの確認法は Table 1 に示す通りで、I, IIは紫外線照射により強い蛍光を発するので容易に確認できた。ドラージェンドルフ試液、塩化白金ヨウ化カリウム試液を噴霧すると、プレートのバックグラウンドがそれぞれ濃黄色、赤紫色になるため、塩化白金ヨウ化カリウム試液で IV を確認したのみであった。IIIの検出には、Table 1 に示したもののほか、UV、チモールブルー試液を用いたが、いずれも確認不能であった。しかしこのことは、逆に III が II の蛍光モードでの定量を妨害しないことをも示すものであり、

定量のためには、I と II が完全に分離する3時間の泳動で充分であった。

2. ベルベリンの定量

デンストメトリーによる定量は前報⁵⁾と同様に行なった。測定値の一例を Table 2 に示す。タンニン酸ベルベリン (II) の正確な分子量は日本薬局方には記載されていないので、ベルベリンより II への換算には、沢田ら⁶⁾が市販 (II) 4 種を分光光度計三機種、二標準品 (重クロム酸カリ、塩化ベルベリン) を用いて分析して得た計 24 個のデータの平均値 31.332 を採用し、含有率を算出した。

以上の予試験的な定量の結果から、本法が II の定量はもとより I, II の同時定量にも応用し得る簡便な方法として推奨できる。

文 献

- 1) 野口 衛, 持田研秀: 生薬
- 2) 勝井五一郎他: 昭和48年度厚生科学研究报告, p. 115
- 3) 河内敬朝他: 昭和48年度厚生科学研究报告, p. 145
- 4) 野口 衛: 第3回生薬分析討論会講演要旨, 13 (1974. 7)
- 5) 持田研秀, 野口 衛: 昭和49年度厚生科学研究报告
- 6) 沢田 弘他: 日本公定書協会会報, 16, 7 (1966)
- 7) 井上哲男, 立沢政義, 李 樹其: 医薬品研究, 6, 154 (1975)

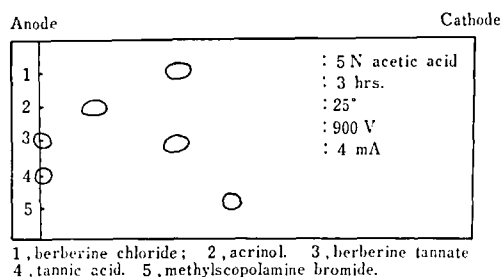


Fig. 1. Electrophoretic pattern of some basic pharmaceuticals on polyamide thin-layer plate

Table 1. Identification of some pharmaceuticals on polyamide thin-layer plate

	Acrinol	Berberine	Chlorpheniramin	Methylscopolamine
Color	Yellow	Yellow	—	—
Fluorescence	+	+	—	—
Dragendorff's Reag. ¹⁾	Yellow	Light Yellow	—	—
Ehrlich Reag.	—	—	—	±
Iodoplatinate Reag. ²⁾	—	—	—	Dark Blue
Fluorescein Reag.	Blue Fluor.	—	—	—

1) color of background, dark yellow

2) color of background, reddish violet,

Table 2. Determination of berberine in the commercial preparation for stomach and bowels

No.	Berberine Cont Observed. (μg)	Content in One Tablet		
		Berberine (A) mg.	Berberine Tannate (B) mg.	Percent %
1	0.3610	12.01	38.33	95.83
2	0.3909	13.00	41.49	103.73

B was calculated from A using the correlation factor of 100/31.332⁶⁾.

ガスクロマトグラフィーによるオキシコドン製剤中の塩酸オキシコドンの定量

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

Gas Chromatographic Determination of Oxycodone Hydrochloride in its Medicinal Preparations

Masako ÔNO, Mochihiko SHIMAMINE and Kazunori TAKAHASHI

A sensitive and rapid gas chromatographic method for the quantitative determination of oxycodone in its medicinal preparations, Compound Oxycodone Inj. and Compound Oxycodone-Atropine Inj., has been developed.

The procedure involves preliminary extraction of oxycodone, hydrocotarnine and atropine from ammoniacal solution into chloroform, followed by evaporation, addition of triphenylbenzene solution as an internal standard and analysis using a gas chromatograph with a flame ionization detector.

The alkaloids are completely separated on a column packed with 3% SE-30 on Gas-chrom Q(60~80 mesh) and oxycodone is chromatographed without trimethylsilylation under the condition described in this paper.

The recovery of oxycodone by this method is 100.05%. The standard deviation and coefficient of variation of the method are 0.6212 and 0.62% respectively.

(Received May 31, 1975)

塩酸オキシコドンの製剤として日局 8 に収載されているものに、複方オキシコドン注射液および複方オキシコドンアトロピン注射液がある。前者は塩酸オキシコドンに塩酸ヒドロコタルニンが、後者はこれらに硫酸アトロピンが配合されているものであり、いずれの場合にもオキシコドンだけを有機溶媒で抽出分離し、滴定するのは不可能である。したがってこれまで日局に採用されてきた定量法でも、オキシコドン进行他のアルカロイドから分離するために、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応させ、対応するヒドラゾン硫酸塩として沈殿させ、重量法により測定することになっており、試料量、定量値の条件による誤差、定量に要する時間などの点で試験法の改良が望まれている。

現在日局中、純度試験や定量法にガスクロマトグラフィー (GC) が採用されているのは酸素等、気体の場合だけであるが、混合製剤中の微量有効成分などの定量が要求されてきているので、GC の製剤定量への適用も近い将来可能であろう。われわれは、麻薬に配合された硫酸アトロピンやスコボラミンの GC による定量を行なったが¹⁾、ここでは麻薬製剤中の麻薬の定量を試みた。オキシコドン製剤は、アンモニアアルカリ性でクロロホルム抽出を行ない、抽出液について直接 GC で定量でき、良好な結果を得ることができた。

実 験 方 法

I. 測定条件

i) GC Apparatus: Shimadzu GC-4BMPF

Detector: HFID

Column: SE-30 (GC-grade), 3%, Gas chrom Q (60~80 mesh), I.D. 3mm, L. 2 m, glass column

Temp.: Column 240°, Detector 270°

N₂ 45 ml/min, H₂ 50 ml/min

Air 1 l/min

ii) Digital integrator Takeda Riken TR-2215A

Digital filter 200 count

Threshold level 80 μ V

Time delay 0.3 sec

Collection rate 500 μ V/min

Noise filter 4

Slope sensitivity 20 μ V/min

II. 定量法 塩酸オキシコドン約 4 mg に対応する容量を正確に量り、分液ロートに入れ、水 10 ml およびアンモニア試液 2 ml を加え、クロロホルム 10 ml ずつで 3 回よく振り混ぜて抽出する。抽出液はあらかじめクロロホルムで潤した脱脂綿を用いてろ過する。クロロホルムを減圧で蒸発乾固したのち、残留物に内部標準溶液 2 ml を加えて溶かし、試料溶液とする。試料溶液 1.0 μ l につき前記条件で測定を行ない、ピーク面積比 (x) を測定し、つぎの計算式により塩酸オキシコドンの量 (mg) を求める。

塩酸オキシコドンの量 (mg) = $4.583x + 0.149$

i) オキシコドン塩基の精製 塩酸オキシコドン

(日局 8, 適品) を水に溶かし, アンモニア試液を加え, 生じる沈殿をガラスろ過器を用いてろ取し, 水で洗ったのち, 無水エタノールに溶かし, 再結晶する。得られた結晶を減圧 (5 mmHg, P_2O_5), 40° で 1 時間乾燥する。

ii) オキシコドン標準溶液の調製 精製したオキシコドン塩基約 0.1 g を精密に量り, 無水エタノールを加えて溶かし, 正確に 100 ml とする。

iii) 内部標準溶液の調製 トリフェニルベンゼン (東京化成製, GR) 約 0.1 g を精密に量り, 無水エタノール・アセトン混液 (7:3) を加えて溶かし, 正確に 100 ml とする。

実験結果および考察

1) カラムの選定

3% OV-1 (Gas chrom Q, 60~80 mesh) および 3% SE-30 (GC-grade) (Gas chrom Q, 60~80 mesh), それぞれについて検討したところ, OV-1 に比較して SE-30 の方が分離能, 保持時間, 安定性の点で良好であった。

2) シリル化について

あへんアルカロイドのような高沸点物質の測定にはシリル化を必要とする場合が多いが, われわれはすでにあへん中のコデインおよびテバインをシリル化しないで定量することに成功しており²⁾, オキシコドンについても, SE-30 を用いる前記条件の GC でシリル化をすることなく定量ができ, Fig. 1 に示すような良好な結果を得ている。

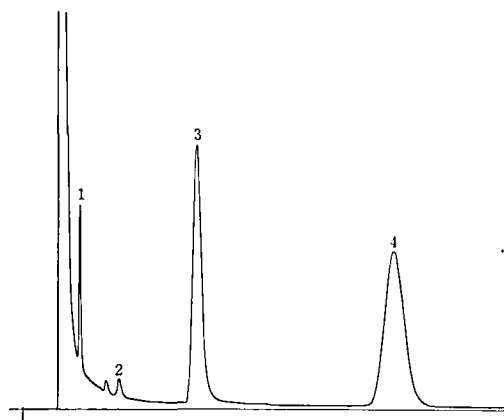


Fig. 1. Gas chromatogram of Compound Oxycodone-Atropine Injection
GC condition: above-mentioned

1: hydrocotarnine, 2: atropine, 3: oxycodone,
4: triphenylbenzene (I.S.)

3) 検量線の作成

オキシコドン標準溶液それぞれ 1~6 ml ずつを正確に量り, 減圧で蒸発乾固したのち, 内部標準溶液 2 ml を加えて溶かし, その 1.0 μ l につき GC を行ない, 縦軸にオキシコドンと内部標準物質の重量比 (y) を, 横軸にはデジタルインテグレーターを用い, 得られた面積比 (x) をとり, 検量線を作製した (Fig. 2). この検量線は回帰方程式 $y = 1.686x + 0.055$ によって表わされ, このときの相関係数は 0.99994 を示した。

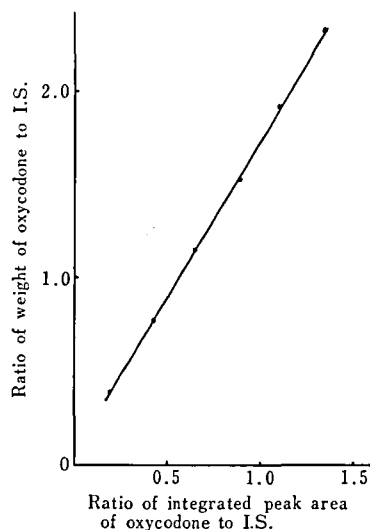


Fig. 2. Calibration curve of oxycodone

Table 1. Reproducibility of the ratio of integrated peak areas of oxycodone to triphenylbenzene (I.S.)

Number	Ratio of weight					
	0.385	0.770	1.155	1.540	1.925	2.310
1	0.199	0.418	0.657	0.886	1.108	1.337
2	0.198	0.423	0.654	0.882	1.099	1.340
3	0.197	0.433	0.651	0.890	1.177	1.344
4	0.195	0.423	0.659	0.885	1.116	1.347
5	0.198	0.416	0.654	0.887	1.085	1.332
6	0.198	0.421	0.656	0.879	1.095	1.359
7	0.192	0.421	0.659	0.876	1.099	1.346
8	0.198	0.424	0.654	0.886	1.137	1.341
9	0.196	0.421	0.655	0.879	1.103	1.339
10	0.197	0.429	0.654	0.888	1.101	1.333
$\bar{x}$	0.197	0.423	0.655	0.883	1.106	1.342
s	0.0020	0.0050	0.0025	0.0049	0.0145	0.0079
v	1.02%	1.18%	0.38%	0.55%	1.31%	0.59%

4) ピーク面積比の再現性

オキシコドンと内部標準物質とのピーク面積比の再現性は Table 1 に示すように良好であり、オキシコドンの定量に十分用いられると思われる。

5) 回収率

塩酸オキシコドン約 1.2g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 150 ml とし、試験溶液とする。この試験溶液につき、II の定量法にしたがって、操作し、GC を行ない、得られたピーク面積比(x)から、つぎの計算式により塩酸オキシコドンの回収率を求めた (Table 2)。

オキシコドンの量(z)は内部標準物質が 2.112 mg/2 ml のときに得られた検量線の回帰方程式

$$y = 1.686x + 0.055 \quad \text{から}$$

$$z(\text{mg}) = 2.112y = 2.112(1.686x + 0.055)$$

$$= 3.561x + 0.116$$

となり、塩酸オキシコドンの回収率はつぎの式から求められる。

塩酸オキシコドンの回収率 (%)

$$= \frac{z}{\text{塩酸オキシコドンひょう取量 (mg)}} \times \frac{405.88}{315.36} \times 100$$

$$= \frac{4.583x + 0.149}{\text{塩酸オキシコドンひょう取量 (mg)}} \times 100$$

Table 2. Recovery of oxycodone, calculated as hydrochloride, by means of GC-method and J.P. VIII-assay

Number	GC	J.P. VIII
1	99.29%	104.45%
2	99.93	105.10
3	99.48	103.02
4	100.27	103.61
5	100.05	104.10
6	101.10	102.91
7	100.70	102.78
8	99.59	103.20
$\bar{x}$	100.05%	103.65%
s	0.6213	0.8324
v	0.62%	0.80%

Table 2 に日局 8 の定量法で得た値と比較して示した。GC 法による回収率は平均 100.05%，変動係数 0.62% でばらつきも少なく、十分に満足する結果といえる。

6) 塩酸塩注入による回収率の低下

気質沢らは GC 分析における感度について、抗ヒスタミン剤や鎮痛剤の塩基とそれらの鉍酸塩や有機酸塩とを比較し、塩類では感度低下の傾向があり、まったくピークが現われない場合もあると述べている³⁾。そこでわれわれは塩酸オキシコドンのエタノール溶液をそのまま試料にして注入したところ、tr は塩基の場合とまったく同一であった。また内部標準物質に対するピークの面積比(x)を測定し、前記計算式から回収率を求めた (Table 3)。

Table 3. Recovery of oxycodone hydrochloride injected hydrochloride solution as a sample

Recovery	
95.84%	95.07%
95.32	95.71
95.13	96.36
96.03	95.39
$\bar{x}$	95.61%
s	0.4561
v	0.48%

回収率は塩基の場合より、約 4% 程度低くなったが、これが充填剤への吸着性の相違によるのか、気化性の難易の相違で注入口に付着し、ロスが生ずるためなのか明らかでない。

7) 製剤への適用

注射液 0.5 ml を正確に量り、II の定量法にしたがって操作し、GC を行ない、得られたピーク面積比(x)から、つぎの計算式により塩酸オキシコドンの含量を求めたところ、Table 4 に示すような結果を得た。

Table 4. Results of analysis of the medicinal oxycodone preparations

Content of oxycodone-HCl (%)	
A	B
0.78	0.79
0.81	0.81
0.82	0.79
0.79	0.79
0.80	0.80
0.79	0.81

A : Compound Oxycodone Injection

B : Compound Oxycodone and Atropine Injection

塩酸オキシコドンの含量(W/V%)

$$= \frac{4.583x + 0.149}{500} \times 100$$

オキシコドン製剤中のオキシコドンの定量に、迅速かつ精度よいGC法を確立した。充填剤にSE-30を用いると、オキシコドンはテーリングを示さず、共存するヒドロコタルニンやアトロピンともよく分離し、検量線作成時にピーク面積比が最も大きくばらついた場合でも、その変動係数は、1.31%であり、定量法とし

て十分満足できるものである。

文 献

- 1) 麻薬技術委員会：医薬品研究，5，No. 4，420 (1974)
- 2) 高橋一徳，島峯望彦，大野昌子：日本薬学会第94年会，仙台 (1974)
- 3) 気賀沢和雄，柊木峯治，永松康生，岩田武彦：日本薬学会第94年会，仙台 (1974)

幻覚剤に関する研究（第9報）

トリプタミン系化合物の分析

大野昌子・島峯望彦・高橋一徳

Studies on Hallucinogens. IX Analysis of Tryptamine Derivatives

Masako ÔNO, Mochihiko SHIMAMINE and Kazunori TAKAHASHI

Recently, a certain hallucinogenic tryptamine derivatives, for example DMT, DET, are often sold illegally in some countries. Hence, reliable criteria for their identification and differentiation are a great importance to the forensic chemists.

In this note color and microcrystal tests, UV absorption spectra data, thin layer- and gas-chromatographic systems suitable for the separation and identification of tryptamine derivatives are described.

(Received May 31, 1975)

著者らは第1報¹⁾でのべたように、厚生省依託による「幻覚剤の物理的、化学的研究」を行なってきた。われわれはすでに約10種余に及ぶ幻覚剤の鑑定用標準品を合成したが、このうちのトリプタミン系化合物DMT²⁾，DET²⁾，DPT²⁾，サイロシン³⁾，サイロシビン⁴⁾と、入手したプロヘニンおよび、化学構造上これらの化合物に共通する基本骨格であるトリプタミンをとり上げ、呈色反応、薄層クロマトグラフィー (TLC)，ガスクロマトグラフィー (GC)，マイクロクリスタルテスト，UV測定による鑑定法の確立を試みた。なおIR，NMR，Massスペクトルのデータは，それぞれの合成報告^{2,3,4)}中に示したので重複を避けた。

実験方法および結果

試料

- 1) トリプタミン (塩酸塩 SIGMA 社製)
- 2) DMT (N,N-ジメチルトリプタミン)
- 3) DET (N,N-ジエチルトリプタミン)・塩酸塩
- 4) DPT (N,N-ジプロピルトリプタミン)・塩酸塩

5) プロヘニン (5-ヒドロキシ-N,N-ジメチルトリプタミン) (シュウ酸塩 SIGMA 社製)

6) サイロシン

7) サイロシビン

試験

1. 呈色反応

試液

1) ホルマリン・硫酸試液

2) 亜セレン酸・硫酸試液

3) モリブデン酸アンモニウム・硫酸溶液：モリブデン酸アンモニウム 0.1g を硫酸 10ml に溶かす。

方法

試料 1)～7) それぞれ数mgずつを滴板上にとり，試液 1)～3) 1滴ずつを加えて，呈色を調べた。また検出限界を求めるためには試料のメタノール溶液(1→2,000)を調製し，その一定量ずつを滴板上にとり，メタノールを蒸発させたのち，同様にして試験する。これらの結果をまとめて Table 1 に示す。

2. TLC

- 1) プレート 24:6:0.1
 a) シリカゲル GF₂₅₄: 厚さ 0.3 mm, 常法により III. クロロホルム:メタノール:28%アンモニア水=27:3:0.1
 調製し, 110°, 1時間乾燥後保存
 b) リプレート: ヤマト科学製, 厚さ 0.2 mm, 110°, IV. エーテル:アセトン: 28% アンモニア水=25:5:0.1
 1時間乾燥後保存
 c) クロマトグラム: イーストマンコダック製, けい 3) 発色剤
 光インディケーターを含むシリカゲル No. 6060, 厚さ 0.1 mm, 100°, 30 分間乾燥後保存
 i) 塩化白金ヨウ化カリウム溶液⁵⁾
 ii) *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド溶液: *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド 0.5 g を無水エタノール 50 ml に溶かし, 塩酸 5 ml を加える.
 iii) Echtblausalz B 溶液⁶⁾
- 2) 展開溶媒
 I. メタノール:28% アンモニア水=100:1.5
 II. クロロホルム:メタノール:28%アンモニア水=

Table 1. Coloration and sensitivity of tryptamine and its derivatives by color test

Compound \ Reagent	Formalin-Sulfuric Acid TS		Selenious Acid-Sulfuric Acid TS		Ammonium Molybdate-Sulfuric Acid Solution	
	Color	Sensitivity	Color	Sensitivity	Color	Sensitivity
Tryptamine·HCl	Y G→Y B	1.0 μg	G B→R B	0.3 μg	Y G→Y B	0.5 μg
DMT	Y B	1.0	Y G→Gr-YB	0.4	G→Y G	1.0
DET·HCl	Y B	1.0	Y G→Gr-YB	0.4	P→Y G	1.0
DPT·HCl	pale YB	1.5	Y G→Gr-YB	0.5	pale P→Y G	1.5
Bufotenine·H ₂ C ₂ O ₄	Y G→Gr	2.0	Y G→Gr-B	0.8	P→Gr	1.0
Psilocin	Y B→G B	2.0	G→Y B	0.5	G→Y G	1.0
Psilocybin	Y B→G B	2.0	Y G	0.5	G→Y G	1.0

Y : Yellow
Gr : Gray

G : Green
R : Red

B : Brown
P : Purple

Table 2. Rf values (×100) and coloration with the location reagent of the spot of tryptamine and its derivatives on the silica gel plates using the solvents I~IV

Compound \ Solvent Plate	I			II			III			IV			Location reagent		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	i	ii	iii
Tryptamine·HCl	22	68	45	14	58	30	7	36	21	11	55	25	dark purple	pink→blue	—
DMT	36	79	58	30	80	52	21	67	47	18	66	37	"	"	—
DET·HCl	40	81	61	33	83	55	21	69	48	34	86	54	"	"	—
DPT·HCl	60	87	74	60	90	65	34	85	63	85	100	78	"	"	—
Bufotenine·H ₂ C ₂ O ₄	32	77	51	9	58	30	5	34	17	4	25	11	"	"	violet
Psilocin	34	79	55	33	80	52	24	72	48	17	62	32	"	"	red-brown
Psilocybin	5	47	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	dull purple	"	—

Solvent: I Methanol: 28% Ammonia Water=100:1.5

II Chloroform: Methanol: 28% Ammonia Water=24:6:0.1

III Chloroform: Methanol: 28% Ammonia Water=27:3:0.1

IV Ether: Acetone: 28% Ammonia Water=25:5:0.1

Plate: a) Silica Gel GF₂₅₄

b) Replate (Yamato Scientific Co., LTD)

c) Film sheet (Eastman Kodak No. 6060)

Location reagent: i) Potassium iodoplatinate spray

ii) *p*-Dimethylaminobenzaldehyde spray

iii) Echtblausalz B spray

Table 3. Retention times t_R (min) and relative retention times (RRT) of tryptamine and its derivatives by using a number of columns under the condition described below

Compound	S E-30						O V-1						PEG 20M	
	180°		200°		240°		180°		200°		240°		230°	
	t_R	RRT	t_R	RRT	t_R	RRT	t_R	RRT	t_R	RRT	t_R	RRT	t_R	RRT
Tryptamine·HCl	3.0	1.00	1.8	1.00	0.9	1.00	3.0	1.00	1.6	1.00	0.8	1.00	20.4	1.00
DMT	3.6	1.20	2.1	1.17	1.0	1.11	3.2	1.07	1.9	1.19	0.9	1.13	13.5	0.66
DET·HCl	6.0	2.00	3.1	1.72	1.2	1.33	5.1	1.70	2.8	1.75	1.2	1.50	17.0	0.83
DPT·HCl	10.3	3.43	5.0	2.78	1.7	1.89	8.9	2.97	4.4	2.75	1.6	2.00	23.1	1.13
Bufotenine·H ₂ C ₂ O ₄	—	—	4.8	2.67	1.6	1.78	—	—	4.3	2.69	1.5	1.88	ng	ng
Psilocin	—	—	3.8	2.11	1.4	1.56	—	—	3.4	2.13	1.3	1.63	ng	ng
Psilocybin	—	—	4.0	2.22	1.5	1.67	—	—	3.5	2.19	1.4	1.75	ng	ng
TMS-Bufotenine·H ₂ C ₂ O ₄	13.6	4.53	6.2	3.44	1.9	2.11	11.8	3.93	5.4	3.38	1.7	2.13	ng	ng
TMS-Psilocin	11.7	3.90	5.6	3.11	1.8	2.00	10.3	3.43	4.8	3.00	1.6	2.00	ng	ng
TMS-Psilocybin	—	—	19.3	10.72	4.4	4.89	—	—	16.4	10.25	3.9	4.88	ng	ng

— : tailing

ng : no peak appears

試料 1)~7) のメタノール溶液 (1→1,000) について前記各プレート、展開溶媒を用いて TLC を行なった。その結果を Table 2 に示した。

3. GC

Condition

Apparatus: Shimadzu GC 4BMPF (connected with Digital Integrator TR-2215 A, TAKEDA RIKEN)

Column: 1) SE-30 (GC-grade), 3%, Gas-Chrom Q, 60~80 mesh

2) OV-1, 3%, Gas-Chrom Q, 60~80 mesh

3) PEG 20 M, 2%, Chromosorb G (AW-DMCS) (5% KOH), 80~100 mesh

I.D. 3 mm, L. 2 m, glass column

Temp.: Column 180°~240°, Det. 270°

N₂ 45 ml/min, H₂ 50 ml/min, Air 1 l/min

Sens.: 100 MΩ Range: 0.08 V

試料 1)~7) のメタノール溶液 (1→1,000) について前記条件で GC を行なった。シュウ酸βブテニン、サイロシンおよびサイロシビンのピークはテーリングを示すのでシリル化して行なった。

シリル化: 試料 5 mg に N-メチル-N-トリメチルシリルアセトアミド 0.5 ml を加え, 80° で 20 分間加熱する。

これらの結果を Table 3 に示した。

4. UV

Apparatus: HITACHI EPS-3T

試料 1)~7) のメタノール溶液 (1→1,000) をうす

Table 4. UV data of tryptamine and its derivatives

Compound	$\lambda_{\min}^{\text{MeOH}}$		$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$	
	nm	E 1% _{1cm}	nm	E 1% _{1cm}
Tryptamine·HCl	243	126	273	390
	276	386	280	405
	287	309	289	350
DMT	243	99	274	338
	277	335	282	361
	288	289	290	310
DET·HCl	243	87	273	263
	277	263	281	276
	287	219	290	245
DPT·HCl	243	112	274	289
	277	289	282	301
	287	248	290	274
Bufotenine·H ₂ C ₂ O ₄	247.5	62	276	213
	292	147	300*	153
			312	120
Psilocin	243	181	268	329
	281	255	285	261
	291	220	294	241
Psilocybin	242	122	268	242
	287	146	280*	202
			289	157

*: inflexion

めて UV を測定した。その結果を Table 4 に示す。

5. マイクロクリスタルテスト

試液

Table 5. Crystal forms of tryptamine and its derivatives

Rgt. Compound	Crystal Forms & Habit	
	Picric Acid Rgt.	Reinecke Salt Rgt.
Tryptamine	yellow large feathers, PC yellow & blue, neg. elongation with RP	brown dendrites, PC whitish, neg. elongation with RP
DMT	clusters of blades (ON), PC yellow, no elongation	dendrites, PC bluish, positive elongation with RP
DET	dichroic (yellow to brown) brushes, branching stems & square crystals, PC yellow blue, no elongation	brown rosettes & sheaves, PC whitish blue, neg. elongation with RP
DPT	yellow spearheads & clusters of blades, PC green to orange birefringence, no elongation with RP	brown rosettes, PC brownish blue, neg. elongation with RP (ON)
Bufotenine	amorphous	brown burs & rosettes, PC bluish brown, neg. elongation with RP
Psilocin	amorphous	brown rosettes, neg. elongation with RP
Psilocybin	amorphous	bundles of rods & needles, PC bluish, positive elongation with RP

PC: observation with polarizers crossed

RP: observation with red plate

ON: overnight

1) 2% 酢酸溶液

2) ピクリン酸溶液: ピクリン酸 0.03 g を氷酢酸 1 ml と 40% 酢酸マグネシウム溶液 5 ml に溶かす。

3) ライネッケ塩溶液: グリセリン・水混液 (1: 2.5) にライネッケ塩を飽和させる (用時調製)。

方法 スライドガラス上に 2% 酢酸溶液に溶かした試料の小滴 2~3 μ l (試料約 0.5~1 μ g 含有) をとり、乾かしたのちの残留物につき試験を行なう。TLC で分離したスポットを試料とするときは、スポットをかきとり、メタノールで溶出、メタノールを蒸発したのち、残留物を 2% 酢酸溶液に溶かして試料とする。カバーガラスに試液 1 滴をつけ、残留物にかぶせる。偏光顕微鏡を使用し、直線偏光、直交ニコルついでレッドプレート (λ_{s35nm}) を挿入し鏡検する。

得られた結晶形を Table 5 に表示する。

考 察

呈色試験では Table 1 に示したようにトリプタミンおよびブホテニンとはともにいずれの試液によっても異なる呈色を示し、サイロシンとサイロシピンは亜セレン酸・硫酸試液による呈色で区別できた。また、DMT, DET および DPT は亜セレン酸・硫酸試液でいずれも同一の呈色を示すが、ホルマリン・硫酸試液の場合に DPT が、またモリブデン酸アンモニウム溶液では DMT のみが他の二つと異なる呈色を示し

た。

検出限度は試液をブランクとして変色が認められた点をとった。

TLC についてはプレートの種類による分離能にあまり差が認められなかったが、*R_f* 値はかなり異なり、リプレートを使用するとき最も大きな値を示し、サイロシピンでとくに著しい差があった。

サイロシピンは展開溶媒 I による以外は、いずれも原点に留まる。DMT, DET および DPT の区別には展開溶媒 IV を用いればよい。DMT とサイロシンはどの展開溶媒でもほとんど同一の *R_f* 値を示すが発色剤によって区別できる。

スポットの検出は紫外線照射による吸収と発色剤によった。

Table 3 に示した GC のデータが示すように SE-30 と OV-1 とではあまり分離能に差がない。カラム温度 180° ではピークがブロードになり測定不可能なものがあつた。また 240° でもブホテニン、サイロシンおよびサイロシピンはテーリングを示したがいずれもシリル化により良好な結果を得た。

PEG 20 M のカラムは 230° でトリプタミン、DMT, DET および DPT だけに用いることができる。

Table 4 に示すようにトリプタミン、DMT, DET および DPT の吸収極大、極小波長はほとんど変わらず、UV による区別は不可能であるが、ブホテニン、

サイロシンおよびサイロシビンのスペクトルはそれぞれがいに異なり、容易に区別できる。これらの化合物は全部3つずつ吸収のピークをもっているが、トリプタミン、DMT、DET および DPT では2番目の、その他はいずれも最初の極大値が最も大きい。

マイクロクリスタルテストは、本報でとり上げた7つの化合物の鑑別を目的として行なったので、2つの試液によるテストの結果だけを示した。各化合物について特長的なものも見いだしたがここでは省略した。

トリプタミン系の幻覚剤の鑑定は、以上にのべた方法を有効に組合せ用いることによって非常に微量なものについても行なうことができる。

トリプタミン、プロヘチンを除く化合物はすべて厚生省依託による幻覚剤の研究において、われわれが合

成したものをを用いた。

文 献

- 1) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **91**, 33 (1973)
- 2) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **91**, 36 (1973)
- 3) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **91**, 39 (1973)
- 4) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **92**, 41 (1974)
- 5) 朝比奈晴世, 大野昌子: 衛生試報, **74**, 57 (1956)
- 6) 朝比奈晴世, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **86**, 22 (1968)

有機リン農薬の薄層クロマトグラフィー

武田明治・内山 充・武田トミエ*

Thin-layer Chromatography of Organophosphorus Pesticides

Mitsuharu TAKEDA, Mitsuru UCHIYAMA and Tomie TAKEDA*

Thirty-two kinds of organophosphorus insecticides were examined on thin-layer chromatography with fifteen kinds of developing solvents.

To insecticides containing sulfur atom in the molecules, TBPP method was the most sensitive among the others, paradium chloride method and sulfosalicylic acid method. Only TBPP method could use for detection of the insecticides in field of pesticide residue analysis but the others were not enough in their sensitivities. Paradium chloride method was the most simple in procedure of the detection and could use for detection of the standard insecticides on thin-layer chromatograms. Ammonium molybdate method for detection of the insecticides not containing sulfur atom in the molecules could not give sufficient sensitivities for the residue analysis.

The complete separation of the organophosphorus insecticides on the same chromatograms could not succeed by development with the solvent systems examined in the present study. Comparatively fine separation of the insecticides were obtained by using *n*-hexane-methanol (80:20), *n*-hexane-acetone (60:40), and benzene-acetic acid (90:10) and (80:20) as developing solvents.

On the bases of analysis of organophosphorus insecticides by gas chromatography, the detection of them by thin-layer chromatography should be carried out by combination of different solvent systems.

(Received May 31, 1975)

現在わが国の残留農薬分析の公定法¹⁾においては、ガスクロマトグラフィーにより定量し、農薬残留量が残留基準を越えたものにつき薄層クロマトグラフィーによって確認する方法が採用されている。しかしながら公定法には EPN, フェニトロチオン, メチルパラチオン及びパラチオンに対する *R_f* 値が示されている

に過ぎない。今後の残留基準の増加に伴い有機リン農薬の薄層クロマトグラフィーによる確認法の確立が急務である。

そこで著者らは現在わが国で登録されている32種の有機リン殺虫剤につき、種々の展開溶媒を用いてシリカゲル薄層クロマトグラフィーを検討し、若干の知見を得たので報告する。

* 共立薬科大学

実験方法

1. 試薬

有機リン殺虫剤：日本農薬工業会を通じて各農薬製造会社より分与されたものを使用した。

有機溶媒：市販の試薬一級品を全ガラス製蒸留装置で蒸留した。

酢酸、過塩素酸、塩酸、塩化パラジウム、テトラブロムフェノールフタレインエチルエステル (TBPP)、硝酸銀、クエン酸、モリブデン酸アンモニウム、スルホサリチル酸及び塩化第二銀はすべて試薬特級品を用いた。

薄層クロマトグラフィー用シリカゲル：メルク社製シリカゲル G

有機リン農薬標準溶液：保存溶液として各有機リン農薬の 1,000 ppm の *n*-ヘキサン溶液を調製した。使用に際し適当な濃度に希釈した。

発色試薬

a) 塩化パラジウム法²⁾ 0.5% 塩化パラジウム溶液を噴霧すると、淡黄色のバックグラウンドに黄～黄褐色のスポットが現われる。

b) TBPP 法³⁾ 1% TBPP 溶液を噴霧後 0.5% 硝酸銀溶液を軽く噴霧する。約 2 分後に更に 5% クエン酸溶液を噴霧すると黄色のバックグラウンドに青～紫色にスポットが現われる。

c) スルホサリチル酸法⁴⁾ 臭素蒸気に約 10 分間あてた後、0.1% 塩化第二銀溶液を噴霧する。約 15 分後、1% スルホサリチル酸溶液を噴霧すると、UV 照射下紫色のバックグラウンドに白色の蛍光スポットが出現する。

d) モリブデン酸アンモニウム法⁵⁻⁷⁾ 試薬を噴霧した後、薄層板を赤外線燈で 2 分間照射する。更に 7 分間長波長の紫外線燈で照射するか、あるいは 110° で 5～10 分間加熱すると黄色スポットが得られる。

2. 薄層の調製

薄層用シリカゲルを常法にしたがって厚さ 0.25 mm の薄層を調製し、120° の乾燥器で 2 時間加熱活性化したものを薄層保存箱中に保存した。

3. 展開

各種有機リン農薬溶液から各々 100 ppm の *n*-ヘキサン溶液を調製し、この溶液を薄層の下端から 3 cm の位置に 1.5 cm の間隔でマイクロシリンジを用いて 10～100 μ l をスポットした。風乾後、展開溶媒で飽和された展開槽内で薄層板の下端 1 cm を展開溶媒中に浸し、上昇法により溶媒先端が約 15 cm の距離まで展開した。展開後、薄層板を風乾し、各発色試薬を噴霧し

て有機リン殺虫剤を検出した。

実験結果及び考察

今回検討された 4 種の発色試薬のうち、塩化パラジウム法、TBPP 法及びスルホサリチル酸法は含イオウ有機リン農薬に対して、モリブデン酸アンモニウム法は分子内にイオウの有無にかかわらずリン化合物に対して検出可能である。後者は本実験においてイオウを含有しない有機リン殺虫剤の検出に用いた。

含イオウ有機リン殺虫剤に対する発色法のうち TBPP 法が最も感度が良く、農薬によっては 0.05 μ g まで検出可能で、含イオウ有機リン農薬の薄層クロマトグラフィーによる確認法として最適であると考えられる。一方塩化パラジウム法は検出感度で TBPP 法に劣るが、発色操作が最も簡単な方法である。

残留農薬分析において種々のカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップ法が採用されているが、これらのクリーンアップによっても妨害物の除去が不十分な場合には、薄層クロマトグラフィーがしばしば採用されている。この場合、標準農薬の検出法として用いられる発色試薬にはそれほど高感度のものを必要とせず、むしろ発色操作の簡便な方法が適すると考えられるので、塩化パラジウム法はこの方面での応用が期待される。

モリブデン酸アンモニウムはリンの検出試薬として生化学を始め、広い分野で繁用されているが、著者らが今回検討した限りでは、薄層クロマトグラフィー用の検出試薬としてはそれほど感度が良いとはいえず、今後この分野におけるイオウを含有しない有機リン農薬に対する感度の高い検出試薬の開発が望まれる。

一般的にいうと、今回検討された発色法のうちでは TBPP 法のみが残留農薬分析における確認法として実用に供し得る方法であった。

現在わが国で登録されている有機リン殺虫剤 32 種につき 15 種類の溶媒系を用いてシリカゲル薄層クロマトグラフィーを検討し、それぞれの *R_f* 値をまとめて Table 1 に示した。今回検討された展開溶媒のうちから 32 種の有機リン殺虫剤を完全に分離出来る溶媒系を見出せなかったが、比較的分離の良好な溶媒として *n*-ヘキサン-メタノール (80:20)、*n*-ヘキサノ-アセトン (60:40)、ベンゼン-酢酸 (90:10) 及び (80:20) などを挙げる事が出来る。

有機リン殺虫剤の薄層クロマトグラフィーによる確認において、先ず異なる数種類の液相を用いたガスクロマトグラフィーによる分析結果を基として、共存する他の農薬を勘案して適当な展開溶媒を検索し、数種

Table 1. R_f values of organophosphorus insecticides in silica-gel thin-layer chromatography

Organophosphorus Insecticides	Solvent systems							
	<i>n</i> -Hexane-Acetone (75 : 25) (60 : 40)	<i>n</i> -Hexane-Chloroform (10 : 90) (5 : 95)	<i>n</i> -Hexane-Ether (90 : 10)	<i>n</i> -Hexane-Methanol (98 : 2) (90 : 10) (80 : 20)	<i>n</i> -Hexane-Acetic acid (90 : 10) (75 : 25)	Benzene-Chloroform (50 : 50) (40 : 60)	Benzene-Acetic acid (90 : 10) (80 : 20)	Chloroform-Methanol (90 : 10)
BEBP (Conen)	0.43	0.59	0	0.15	0.36	0.06	0.13	0.74
BRP* (Naled, Dibrom)	0.28	0.45	0.02	0.19	0.35	0.14	0.80	0.61
Chlorpyrifos	0.58	0.73	0	0.28	0.80	0.65	0.68	0.77
CVMP*	0.15	0.23	0.02	0.09	0.18	0.25	0.42	0.68
CYAP (Cyanox)	0.31	0.52	0.05	0.17	0.28	0.32	0.40	0.74
CYP (Surecide)	0.40	0.58	0.08	0.30	0.49	0.46	0.47	0.77
DDVP* (Dichlorvos)	0.27	0.37	0.02	0.08	0.13	0.14	0.19	0.51
Demeton-S-methyl (Meta-systox)	0.20	0.37	0	0.04	0.09	0	0.03	0.72
DEP* (Trichlorfon, Dipterex)	0.03	0.11	—	0	0.05	0.36	0.47	0.27
Diazinon	0.54	0.68	0.08	0	0.65	0	0.18	0.78
Dimethoate	0.08	0.22	0	0	0	0	0.02	0.43
ECP (VC-13, Nemacide)	0.60	0.71	0.39	0.63	0.84	0.75	0.65	0.80
EDDP (Hinosan)	0.34	0.52	0	0.09	0.22	0.05	0.11	0.74
EPN	0.41	0.62	0.18	0.42	0.60	0.56	0.56	0.80
ESP (Estox)	0	0.39	0	0	0	0	0	0.45
Ethion	0.49	0.62	0.21	0.55	0.75	0.60	0.61	0.80
Ethyl thiometon (Di-syston)	0.55	0.69	0.31	0.62	0.79	0.57	0.74	0.80
Formothion	0.20	0.42	0	0.25	0	0.08	0.12	0.75
IPSP	0.17	0.34	0.20	0	0.03	0	0.03	0.40
Malathion (Malathion)	0.37	0.57	0.03	0.24	0.42	0.17	0.23	0.76
Mecarbam (Pestan)	0.41	0.57	0.04	0.28	0.47	0.24	0.31	0.78
MEP (Fenitrothion, Sumithion)	0.35	0.58	0.10	0.35	0.58	0.54	0.50	0.78
MTP	0.52	0.67	0.25	0.11	0.74	0.51	0.58	0.75
MPP (Fenthion, Baycid)	0.43	0.60	0.18	0.12	0.71	0.58	0.58	0.80
PAP (Paphion, Elsan)	0.42	0.61	0.11	0.05	0.57	0.42	0.50	0.77
Parathion	0.45	0.64	0.17	0.10	0.67	0.52	0.52	0.78
Phothalon	0.34	0.58	0.03	0.43	0.44	0.35	0.41	0.75
PMP (Imidon)	0.25	0.47	0	0.13	0.23	0.21	0.18	0.77
Salithion	0.36	0.51	0.12	0.10	0.45	0.57	0.57	0.78
TEPP	0.20	0.32	—	0.02	0.20	0.25	0.32	0.82
Thiometon (Ekatin)	0.53	0.65	0.22	0.14	0.73	0.52	0.57	0.79
Vamidithion	0	0.07	0	0	0	0	0.01	0.53

* : not contains sulfur in the molecule

の溶媒系を組合わせて確認試験をより精度の高いものによる必要があろう。

終りに臨み、各種有機リン殺虫剤の入手に御配慮された農薬工業会並びに有機リン殺虫剤の標品を御恵与下された各農薬製造会社に深謝致します。

文 献

- 1) 厚生省告示第 322 号, 第 333 号 (昭和 48 年 12

月 21 日)

- 2) J. Bäumeler: *Helv. Chim. Acta.*, 44, 1162 (1961)
 3) M.F. Kovacs: *JAOAC*, 47, 1097 (1964)
 4) M. Salamé: *J. Chromatog.*, 16, 476 (1969)
 5) C.S. Hanes, F.A. Isherwood: *Nature*, 164, 1107 (1949)
 6) T.H. Bevan, G.I. Gregory, T. Malkin, A.G. Pooler: *J. Chem. Soc.*, 1951, 841
 7) C.W. Stanley: *J. Chromatog.*, 16, 467 (1964)

洗濯用洗剤中の蛋白分解酵素のニンヒドリンによる検出方法

中村晃忠・足立 透・鈴木明子*・小嶋茂雄・毛利潤子・大場琢磨

A Method to Detect Proteolytic Enzyme from Detergents

Akitada NAKAMURA, Tohru ADACHI, Akiko SUZUKI*,
 Shigeo KOJIMA, Junko MOHRI, and Takuma ÔBA

A method for detecting proteolytic enzyme from detergents with use of ninhydrin as a color reagent for the amino-acids liberated from casein was studied. As a result of investigating 23 commercial preparations by this test procedure, there were no detergents containing the enzyme except *Zabu-XK*.

(Received May 31, 1975)

緒 言

蛋白性のよごれをおとすという理由で開発された蛋白分解酵素(プロテアーゼ)入り洗剤は 1963 年にオランダに出現して以来、またたく間に世界中に広まり、近年、日本でも同種の洗剤が売り出された。一方、1967年に英国の酵素洗剤メーカーの作業員が酵素による呼吸器疾患をおこすことが明らかとなり、一般消費者にも同様の害がおよぶのではないかという懸念がもたれた。米国科学アカデミーの研究報告¹⁾によれば、「一般消費者が家庭の洗濯に現行の米国製酵素洗剤を使用しても、また、同洗剤で洗った衣服を着用しても、呼吸器系の酵素に対する感作は軽微で洗剤から酵素をのぞかねばならぬ程ではない。また、市販の一般酵素洗剤の皮ふ刺激は酵素を含まない一般洗剤と同程度である。」とされているが、これは米国製品による米国人への影響の調査である。このような事情から、少なくとも洗剤にプロテアーゼが添加されているかどうかを検知する手段を持ちあわせておく必要があると考え、洗濯用洗剤からのプロテアーゼの定性的検出法を検討した。

プロテアーゼの酵素活性は通常カゼインを基質として生成したアミノ酸量をフォリン試薬かニンヒドリン試薬で発色させて測定している²⁾。Sanchez は洗剤工場の粉塵中のプロテアーゼ活性の測定にニンヒドリンを用いており³⁾、また杉浦等は洗剤中のプロテアーゼ活性測定にフォリン試薬を用いている⁴⁾。一方、ドデシル硫酸ナトリウム等の $-SO_3Na$ 型合成界面活性剤は蛋白と結合して変性させたり⁵⁻⁷⁾、ゼインを可溶化する⁸⁾という報告があり、合成界面活性剤の存在下でカゼインを基質としてプロテアーゼの活性を測定する際に困難が予想された。事実、LAS の 0.3% 溶液 2 ml と 0.6% カゼイン溶液 5 ml の混液にトリクロル酢酸溶液 5 ml を加えてもカゼインは全く除蛋白されなかった。このような状況では蛋白のチロジン残基やトリプトファン残基に呈色するフォリン法によるより末端アミノ基にしか反応しないニンヒドリン法の方が盲検値を低くおさえられるので、ニンヒドリン法を採用し、所期の目的を達したので報告する。

試料, 試薬および実験方法

1. 試料

プロテアーゼ含有の明らかなものとしてザブ XK-酵

* 川崎市衛生研究所

素入り（花王石鹼社製）を、プロテアーゼを含まないものとしてニューハイトップ（ライオン油脂社製）を選んだ。前者はプロテアーゼを赤色顆粒として添加しており、必要のある場合はこれをピンセットで分別して用いた。赤色顆粒の全洗剤重量に占める割合は約 0.7% であった。

2. 試薬

i) カゼイン溶液：Hammarsten の乳製カゼイン 0.6 g に水を加え、約 50° の水浴上で加温しながら 1 N 水酸化ナトリウム溶液 10 滴を滴下して溶かしたのち、水を加えて 100 ml とする (pH 約 10)。用時調製し、30° で 30 分以上予温してから使用する。

ii) トリクロル酢酸 (TCA) 溶液：トリクロル酢酸 1.80 g および無水酢酸ナトリウム 1.80 g および氷酢酸 5.5 ml に水を加えてとかし 100 ml とする。

iii) 塩化第一錫溶液：アミノ酸自動分析計用 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.16 g を酢酸塩緩衝液にとかして 100 ml とする。酢酸塩緩衝液は酢酸ナトリウム ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 36 g および氷酢酸 6.6 ml に水を加えてとかし 100 ml として製する (pH=5.46)。

iv) ニンヒドリン試液：0.6 g のニンヒドリンをメチルセロソルブにとかして 20 ml とする。

v) 希釈液：イソプロパノールと水の等量混液

vi) 酵素原液：ザブ XK の赤色顆粒約 0.2 g を精密に秤り水を加えてとかしろ過する。残留物は少量の水で数回洗い、ろ液および洗液をあわせたのち水を加えて 100 ml とする。

3. 検出法

洗剤約 7 g をとり水 100 ml を加えてとかし、ろ過する。これを試料液とする。試料液 2 ml をとり予温したカゼイン溶液 2 ml を加え 30° で 60 分間振盪しながら作用させ、ついで TCA 溶液 5 ml を加えて振り混ぜ、さらに 30° で 30 分間放置したのちろ過する。ろ液 1 ml を角付共栓試験管にとり、塩化第一錫溶液 1 ml およびニンヒドリン試液 1 ml を加え、密栓して沸騰水浴中で 15 分間加熱したのち、ただちに希釈液 20 ml を加えてはげしくふりまぜ、流水中で 10 分間冷却したのち、水を対照として 570 nm における吸光度を測定し、この時の値を E_1 とする。別に試料液 20 ml を量り、50 ml のビーカーに入れ、沸騰石を加えて直火でおだやかに 15 分間煮沸する。冷後、ビーカーの内容物を 20 ml のメスフラスコに移し、ビーカーは少量の水で洗って、メスフラスコに合し、水を加えて正確に 20 ml とする。この 2 ml をとり予温してカゼイン溶液 2 ml を加えて、以下上述と同様に操作し

て測定した吸光度を E_2 とする。 $E_1 - E_2$ の値で酵素の有無を判定する。

プロテアーゼの検出条件の検討

緒言でも述べたように、本研究は洗剤中にプロテアーゼが添加されているかどうかを知るためのきわめて定性的な試験法の作成を目的としており、洗剤中の酵素の活性度を測定することを目的としたものではないので定量性がなくても盲験値と試験値 (E_2 と E_1) の間に明らかな差が出るように条件を設定した。

1) 酵素とカゼインの反応時間と呈色の関係

酵素原液 4 ml をとり水を加えて 10 ml とし顆粒の重量で 0.08 g/100 ml になるように調製した溶液 2 ml にカゼイン溶液 5 ml を加え、30° で所定の時間振盪後、TCA 溶液 5 ml を加え、以下検出方法に従って操作し吸光度 E_1 値を測定した。その結果を Fig. 1 に示した。図より明かなように時間の経過とともに徐々に吸光度は増しているのがわかる。従って、酵素のみの場合は反応時間はある程度長くした方がよいが、洗剤によってプロテアーゼが阻害されると考えられるのでここでは反応時間は 60 分間とした。

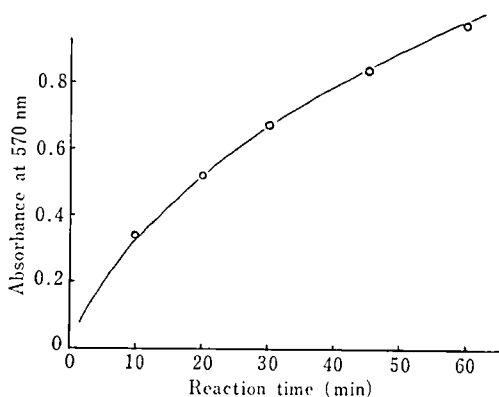


Fig. 1. Time course of enzyme reaction

2) 酵素濃度と呈色の関係

酵素原液を水で希釈して 0.04, 0.08, 0.12 および 0.16 g/100 ml の溶液をつくり、それぞれ 2 ml をとりカゼイン溶液 5 ml を加えて 30° で 60 分間振盪し、以下、1) と同様に操作した時の吸光度を Fig. 2 に示した。その結果、0.12% までは酵素濃度と吸光度とはほぼ直線関係を示すことがわかったので、酵素量 0.04~0.12% の範囲に対応する洗剤を採取すれば (ザブ XK の場合は 5.7~17.1% に相当) 酵素活性の測定も可能と思われる。ここでは後に述べるような洗剤による影響も考慮して、0.049% (洗剤として 7%) に決定した。

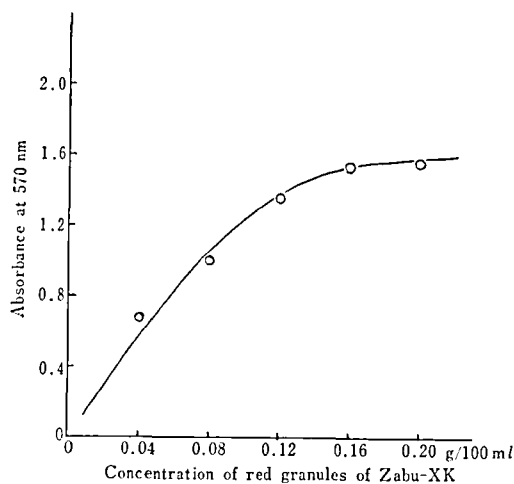


Fig. 2. Influence of concentration of the enzyme

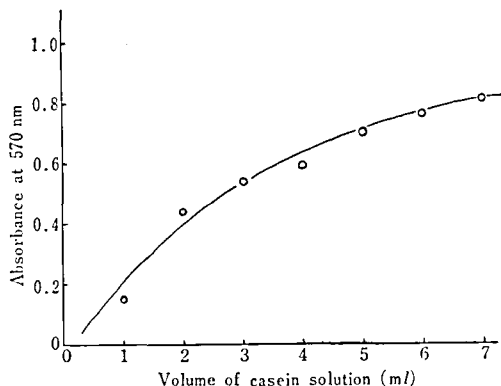


Fig. 3. Influence of volume of the added casein solution

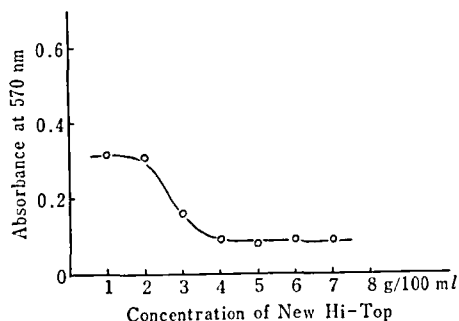


Fig. 4. Influence of co-existing surfactant on color development

3) カゼイン溶液の量と呈色の関係

洗剤とカゼインが結合するために TCA 溶液で除蛋白されないことは緒言で述べたが、これがニンヒドリ

ンによる呈色にどんな影響を与えるかを確かめるために本実験を行なった。

酵素の入っていない洗剤であるニューハイトップ 2 g をとり水 100 ml を加えてとかし、不溶分をろ過後、ろ液 2 ml をとり、カゼイン溶液 1~7 ml を加え、30° で 60 分間振盪し、これに TCA 溶液 5 ml を加えてふりまぜ、さらに 30° で 30 分間放置後ろ過し、ろ液 1 ml をとり、以下、検出法に従って発色させた時の吸光度を Fig. 3 に示した。図より明らかなように、カゼイン量に比例して呈色が高まる。従って、洗剤による呈色(盲験値)を低くするにはカゼイン量を少くした方がよい。そこで、カゼイン溶液量を 2 ml とした。

4) 洗剤濃度の盲験値に与える影響

次に、カゼイン量を 2 ml とし、洗剤濃度を変えた時に呈色がどう変化するかについて実験した。洗剤は

Table 1. Results of detection of proteolytic enzymes from detergents (Commercial Preparations)

No.	Name of detergent	E ₁ -E ₂	Detection of Proteolytic enzymes
1	Zabu-XK	0.681	+
2	New Hi-Top	0.003	-
3	Dash A. O.	0.001	-
4	Raipon F	-0.009	-
5	Zen-Onodo Cheer	-0.027	-
6	Monogen-Uni	0.013	-
7	Co-op Sefutā	0.056	-
8	Attack	0.007	-
9	Sunny	0.000	-
10	Formula 747	0.004	-
11	Blue Chime	-0.012	-
12	Blue Dia	-0.002	-
13	Zabu	-0.026	-
14	New Biizu	-0.008	-
15	New Biizu Soft	0.020	-
16	Miyoshi Senzai	0.016	-
17	Kaō Popinzu	-0.059	-
18	White Wonderful	-0.024	-
19	Pinky	0.026	-
20	White King D	-0.050	-
21	Shiniito	0.008	-
22	New Plus	0.006	-
23	CDC White	-0.090	-

+ detected - not detected

3)と同様にニューハイトップを用い、洗剤濃度を1~7%とした(7%以上では粘性が高すぎて取りあつかいにくい)。この洗剤溶液2mlをとり、カゼイン溶液2mlを加え、以下、3)と同様に操作した時の吸光度をFig. 4に示した。濃度の高い部分で逆に吸光度は低下し4~7%ではほぼ一定になった。これは、洗剤濃度が高まるとTCA溶液を加えた時に遊離のアニオン界面活性剤が沈殿し、これとともに若干のカゼインを沈殿させるためと考えられる。

以上の結果から、洗剤濃度を約7%とし、カゼイン溶液は2mlを用い、反応時間を30°で60分間とする洗剤中のプロテアーゼ検出法を設定した。

市販洗剤の試験結果

市販の洗濯用洗剤23種について試験した結果をTable 1に示した。ザブXK-酵素入りで E_1-E_2 が0.681という高い値を示したほかはいずれも ± 0.1 以内の数値しか示さなかった。本検出法には粘度の高い溶液を加熱するなどの誤差の要因となりやすい操作があり、 ± 0.1 程度の値は実験誤差範囲内のものと考えられる。したがって、酵素添加の明らかな標品として用いたザブXK-酵素入り以外はプロテアーゼは添加さ

れていないと思われる。

以上に述べたように、本検出法によれば、ザブXK-酵素入り程度の酵素活性を持つプロテアーゼ添加洗剤であれば、充分にその酵素の存在を検知できる。

おわりに臨み、有益な御助言をいただいた当所生物化学部福田秀男氏、また、洗剤を提供された当所々員の方々および優文堂書店 鈴木彰弘氏に感謝する。

文 献

- 1) “酵素洗剤と消費者の健康”酵素洗剤特別委員会による報告, 全米科学アカデミー, 1971年11月
- 2) 赤堀四郎編: “酵素研究法” Vol. 2, 朝倉書店, p. 237 (1961)
- 3) M. Sanchez: *Investigation Inf. Text. Tensioactivos*, 16, 319 (1973)
- 4) 杉浦 衛, 小木曾太郎, 徳山良規, 天野鈴代, 吉川周子, 衛生化学, 17, 38 (1971)
- 5) R. Pitt-Rivers, F. S. Ambesi Impiambato: *Biochem. J.*, 109, 825 (1968)
- 6) S.-G. Blohm: *Acta derm. -venereol. (Stockh.)*, 37, 269 (1957)
- 7) D.C.F. Wood, F. Ray Bettley: *Br. J. Derm.*, 84, 320 (1971)
- 8) M.J. Schwuger: *Kolloid-Z. und Z. Polymere*, 233, 898 (1969)

ケシ (*Papaver somniferum* L.) の早生型系統の生産力について

大野忠郎・木下孝三*・小峰常行

On the Productivity of the Early Maturity Strains
in Opium Poppy (*Papaver somniferum* L.)

Tadaro ÔNO, Kozo KINOSHITA and Tsuneyuki KOMINE

Since 1957 the early maturity strains of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) have been bred at the Wakayama Experiment Station of Medicinal Plants. The opium yield, the morphine content in opium and the morphine yield of these early maturity strains during 1965-1973 were compared with those of "Ikkanshu" a common variety of opium poppy in Japan.

1) In the opium yield, three of the early maturity strains are significantly superior to "Ikkanshu".

2) In the morphine content in opium, almost all strains are significantly inferior to "Ikkanshu," however five strains are not inferior.

3) In the morphine yield, all the early maturity strains are not significantly inferior to "Ikkanshu" except only one strain.

4) Almost all bred early maturity strains are equivalent to "Ikkanshu" relative to morphine production.

5) Three strains of superior opium yield and five strains of no inferior morphine contents in opium to "Ikkanshu" seem to be used as more productive breeding materiales.

(Received May 31, 1975)

ま え が き

著者らの二人木下、小峰はさきに早生一貫の育成について報告し¹⁾、育成した早生一貫は一貫種に比し草丈やや低く、10日以上早生であり、あへん収量は相当多く、モルヒネ含量はわずかに低いことを述べたが、この早生一貫と同時に交配した、愛知白および愛知赤と一貫種と他の交配系統についても和歌山薬用植物栽培試験場において育成を続けている。早生一貫の系統をも含めて、これらの系統の1965年から1973年までの9年間の成績をまとめて、各系統の生産力(あへん収量、あへん中のモルヒネ含量、モルヒネ収量)を一貫種のそれと比較し、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

1. 材料

- 1) 愛知白：前報¹⁾で報告したもの。
- 2) 愛知赤：愛知白から1957年当場において分離したものである。
- 3) 一貫種：従来当試験場で栽培されていたもの。
- 4) 1957年5月に交配し、早生一貫育成¹⁾と同様な

育成方法で個体選抜と系統選抜を行なった次のもの

愛知白(AW)×一貫種(I) 19系統

一貫種(I)×愛知白(AW) 1 "

愛知赤(AR)×一貫種(I) 9 "

一貫種(I)×愛知赤(AR) 11 "

計 40 "

5) 早生一貫：1号、2号、3号の3系統(AW×Iの系統である)。

2. 方法

1) 栽培法：すべてケシ栽培耕種基準によって行なわれた。

2) モルヒネ定量：日本薬局方 VI の方法を改良した朝比奈、水町²⁾の方法によった。

3) 統計的検定法：1965年から1973年までの10a当りあへん収量、あへん中のモルヒネ含量、および10a当りモルヒネ収量について、おのおの系統および年を要因とする二元配置の分散分析を行なった。系統間の有意差の検定は Tukey の q 検定によった。

実 験 結 果

分散分析の結果、あへん収量、モルヒネ含量、モルヒネ収量ともに系統間、年間に有意の差(いずれも0.1%水準で有意)が認められた。系統比較の結果は Table 1 のとおりである。

* 前和歌山薬用植物栽培試験場長

Table 1. Yield of opium, morphine content and yield of morphine in premature strains opium poppy ($\times$ 1965~1973)

Strain	Item	Per 10 ares		
		Opium yield	Morphine	
			Content	Yield
		kg	%	g
1	Aichishiro	1.640*	10.03***	159.2***
2	AW $\times$ I 4-53-6	3.439**	9.82***	325.9
3	6-51-6-3	2.744	11.22***	295.3
4	6- 3-6-1-3	2.803	10.94***	298.1
5	6- 3-6-3-1	3.048	10.70***	314.0
6	6-51-6-3-1	2.613	10.89***	280.7
7	5-34-7-2-3-1	2.487	9.49***	228.1*
8	5-34-7-2-3-2	3.031	10.13***	298.6
9	5-34-7-2-3-3	2.417	10.95***	258.6
10	5-34-8-3-5-2	2.905	10.14***	286.0
11	5-52-6-2-3-8	3.300*	10.11***	324.6
12	Wase-ikkan No. 1	3.041	10.33***	304.3
13	AW $\times$ I 6- 3-1-1-1-1	3.403**	10.21***	335.5
14	6- 3-6-1-3-2	3.103	10.19***	304.5
15	6- 3-6-1-3-3	2.780	10.65***	281.3
16	6- 3-6-2-3-1	2.283	11.70*	256.2
17	6- 3-6-3-1-2	2.878	10.06***	303.9
18	6- 3-6-3-1-3	2.313	11.06***	247.5
19	I $\times$ AW 5-12-9-2-4-2	2.742	10.53***	280.1
20	Aichiaka	2.772	11.03***	298.3
21	AR $\times$ I 6-49-6	3.095	10.59***	313.7
22	1-49-2-6	2.636	11.21***	291.8
23	3-51-3-1-3	2.894	10.57***	296.0
24	7-52-9-1-1	2.517	11.25***	271.5
25	1-49-5-1-3-3	2.664	11.59**	303.6
26	1-49-5-2-1-2	2.750	11.43***	304.9
27	3-51-5-1-2-1	2.516	11.30***	273.6
28	3-51-5-1-3-1	2.367	11.12***	255.1
29	6- 3-2-7-2-1	2.635	10.83***	280.6
30	I $\times$ AR 2- 7-9	2.618	12.03	306.8
31	4-33-2-2	2.694	11.77*	307.7
32	4-18-7-1-1	2.866	12.13	341.9
33	2- 7-9-1-2-1	2.680	11.92*	309.9
34	2- 7-9-1-3-1	2.677	12.06	319.9
35	2- 7-9-2-2-2	2.466	11.50**	276.4
36	Wase-ikkan No. 2	2.624	11.72*	292.8
37	I $\times$ AR 2- 7-10-1-1-1	2.422	12.40	314.8
38	4-18- 7-1-1-1	2.499	12.30	290.9
39	4-18- 7-1-1-2	2.987	11.66*	336.1
40	4-18- 7-1-1-3	3.070	11.18***	335.4
41	Wase-ikkan No. 3	2.984	11.52**	332.1
42	I $\times$ AR 4-33-2-2-2-1	2.947	11.10***	325.1
43	Ikkanshu	2.442	13.50	317.4
M. D. (0.05) ^{a)}		0.772	1.50	86.2
M. D. (0.01)		0.949	1.85	106.0
M. D. (0.001)		1.044	2.03	116.6

a) Minimum difference by Tukey's procedure (q-test) for significant at the 5% level
 *, **, *** Significance level of difference from "Ikkanshu"; 5%, 1% and 0.1% respectively

1) あへん収量 (10 a 当り)

交配の親として用いた愛知白は一貫種に比し5%水準で劣っている。

一貫種に比して多いものは $AW \times I$ 4-53-6 (1%水準で有意), $AW \times I$ 5-52-6-2-3-8 5%水準で有意), $AW \times I$ 6-3-1-1-1-1 (1%水準で有意)の3系統でいずれも愛知白を父とし一貫種を母として人工交配を行なった系統である。その他の品種および系統は一貫種に比し有意差が認められない。

2) モルヒネ含量

交配の親である愛知白, 愛知赤は共に一貫種に比し明らかに (0.1%水準で有意) 低い。交配系統は40系統中35系統 (88%) が一貫種に比し劣っている。残りの5系統 (12%) は一貫種に比して有意差が認められない。 $AW \times I$, $I \times AW$, $AR \times I$ の交配組合せのものはすべて一貫種に比し低く, 一貫種と有意差の認められない系統はすべて $I \times AR$ (一貫種を父とし, 愛知赤を母とする)の組合せに属する。

一貫種に比しモルヒネ含量の高い系統はなかった。

3) モルヒネ収量 (10 a 当り)

愛知白は一貫種に比し明らかに (0.1%水準で有意) 少ない。愛知赤と一貫種との差は認められない。交配系統では $AW \times I$ 5-34-7-2-3-1の1系統のみが一貫種に比して少ない (5%水準で有意)。

その他の系統はすべて一貫種との間に有意差を認めない。

考 察

全般的に見ると交配系統はあへん収量では少数のものが一貫種より多く, 大部分の系統は一貫種と同等で, モルヒネ含量では一般に一貫種に比して低く, 少数のものが同等である。あへん収量とモルヒネによって決定されるモルヒネ収量においては, あへん収量の多いものも一般にモルヒネ含量が低いために相殺されて一

貫種程度にとどまっている。これは交配の親として用いた愛知白および愛知赤のモルヒネ含量が低いためと考えられる。結論的には交配系統はあへん収量が多い傾向にあるが, モルヒネ含量が低く, モルヒネ生産力は一貫種と同等であるといえる。

しかし交配系統の中にはモルヒネ含量が一貫種に劣らないもの ($I \times AR$ の5系統), およびあへん収量が一貫種に比して統計的に有意に多い系統 ($AW \times I$ の3系統) も見いだされた。これらの系統はさらに生産力の高い早生型系統の育種の材料となり得るものと思われる。

摘 要

著者らは1957年以来和歌山薬用植物栽培試験場においてケシの早生系統の育成をしてきた。これらの早生型系統の1965年から1973年までの9か年の生産力の平均値を一貫種のそれと比較した。

1) あへん収量においては, 交配系統のうち3系統は一貫種に比しすぐれている。

2) あへん中のモルヒネ含量においては, ほとんどすべての系統が一貫種に比し劣っているが, 5系統は一貫種に比し有意差を示さない。

3) モルヒネ収量においては1系統のみが一貫種に比し劣っているが, その他のすべての系統は一貫種に比し有意差は認められない。

4) 育成したほとんどすべての早生型系統は一貫種と同等のモルヒネ生産力を示す。

5) 一貫種に比しあへん収量の多い3系統およびモルヒネ含量が一貫種に劣らない5系統は, さらに生産力の高い系統の育種の材料となり得るものと思われる。

文 献

- 1) 木下孝三, 小峰常行: 衛生試験, 82, 206(1964)
- 2) 朝比奈晴世, 水町彰吾: 衛生試験, 71, 20(1953)

薬用植物の栽培試験（第5報）
ボタンの生育・収量と増殖について*1

堀越 司・本間尚治郎・畠山好雄・逸見誠三郎*2

Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. V
On the Growth of *Paeonia suffruticosa* Andr.
Especially Multiplication and Yield

Tsukasa HORIKOSHI, Naojiro HOMMA,
Yoshio HATAKEYAMA and Seizaburo HEMMI

These experiments were carried out in order to investigate cold climate adaptabilities of 22 varieties of 6 strains of the biennial nursery stock of *Paeonia suffruticosa* Andr. which were grafted in *Paeonia lactiflora* Pall. from 1969 to 1975.

1) The growth of the top of the white and violet strains were better than other strains. The yield of the root, especially the root of *P. suffruticosa* of the yellow and violet strains, were more than other strains.

2) The average number of the division per mother plant was 7 in the yellow strain, that of the violet strain was 4, and those of other strains were less.

3) Among those divisions 10 varieties (4 white, 2 pink, 2 violet, 1 variegation and 1 yellow strains) took root after one year.

4) Seeds were produced in 5 strains of 22 varieties, and 4 strains of 7 varieties among those germinated after two years.

Better germinations were observed in 'Hanakisoi' (60%) and 'Yaesakura' (30%) of the pink strains.

(Received May 31, 1975)

はじめに

ボタン (*Paeonia suffruticosa* Andr., キンポウゲ科) は中国原産の多年生落葉小灌木で、高さ1~1.5mとなり、陽あたりよく肥沃な土地に生育し、通常庭園に栽植される。中国の分布は河北、河南、山東、四川、陝西、甘粛などである¹⁾。

我が国にボタンが渡来したのは、聖武天皇の時代(西暦72年)に、空海が中国から持ち帰ったのが最初で、全国数ヶ所の寺院に植えられたといわれ、この時代には、もっぱら薬用に供していた²⁾。

ボタンは栽培の目的によって観賞用と薬用に区別し、後者は花卉として容姿単純で劣等の部に属すが、根部の発育は良好で、髓部は細く皮層は厚くしかも芳香に富む。ただし薬用種には特に栽培品種として区別されるものはない³⁾。通常薬用種とされているものは、高さ1mにもなり、いわゆるボタン色の大花を開き、根は太くて長く、収量の多いものをさす⁴⁾。従来原種ならびにそれに近いものはすべて薬用として植えられ

たのがボタン栽培の初まりであったが、現在花壇や庭園などで観賞されている園芸品種の中にも薬用としての価値があるのは当然である⁵⁾。我が国におけるボタンの栽培は、江戸時代(元禄、宝永)が最も盛んであった。明治の中ごろシャクヤク (*Paeonia lactiflora* Pall.) を台木とする接木繁殖法が導入されて以来、海外へも輸出され、一時減少または途絶えたこともあるが、現在もなお輸出が行なわれている。北海道では、大正8年に堀川卯吉が富良野の御料地に試作(奈良県吉野郡宗檜村、石山菊次郎より苗500本購入)したので最初で、営利的には有利で栽培も好結果であった⁶⁾。北海道におけるボタンの栽培は、寒風の強い所と濃霧の多い地方を除けば可能⁷⁾で、最近の栽培面積は、30aとなっている⁸⁾。

著者らは多数の園芸品種を蒐集し、花色系統に区分した上で、寒冷地における各系統または品種の適応性を調査し、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

材料

試験に供した苗はシャクヤク台に接木し地上部が木

*1 日本生薬学会大阪大会にて1部発表('74.10月)

*2 エーザイ(株)植物園

質のいわゆる木ボタンの2年生苗で、島根県八束郡八束町より入手した。用いた品種は Table 1 のとおりで、花色により6系統に分けた。

方法 1.

試験畑は pH 5.5~5.8 の砂質壤土で 1969 年 10 月

11 日、畦幅 150 cm、株間 100 cm として定植した。肥料は基肥として 1969 年 9 月 1 日に 10 a 当たり堆肥 2,500 kg を全面に施用した。追肥は 1970 年 5 月 15 日、1971 年 5 月 21 日、1972 年 5 月 18 日、同年 7 月 22 日の計 4 回 10 a 当たり鶏糞 100 kg、米糠 100 kg をそ

Table 1. Program of examination of *Paeonia suffruticosa* Andr.

Strain	Cultivar	No. of plants
I. White	Hakubanryu, Tamasudare, Renkaku, Imayoo, Shiraogi	91
II. Red	Kao, Kinkaden, Shinkumagai	73
III. Pink	Yaesakura, Tsurunohane, Shishigashira, Tamahuyo, Hanakisoi, Yachiyotsubaki	103
IV. Violet	Hanadaizin, Shimanotsukusa, Yagumo, Kamatafuji	82
V. Variegation	Kamatanishiki, Kokuryunishiki, Zitsugetsunishiki	56
VI. Yellow	Kinkoo	5

Table 2. Growth of various strains of *Paeonia suffruticosa* Andr.

Strain	Plant height (cm)	Spread (cm)	Number of stem	Width of stem at basal part (mm)
I	65.4	79.2×79.4	3.5	14.35
II	59.9	69.9×70.8	1.7	13.70
III	61.6	73.0×75.7	2.3	13.53
IV	65.4	78.9×76.3	3.3	13.47
V	57.1	67.1×68.2	2.6	11.50
VI	59.3	81.0×85.0	4.0	11.02

All data are mean-values based on all plants of each strain

Table 3. Root development of various strains of *Paeonia suffruticosa* Andr.

Strain	Spread of roots (cm)	Fresh weight of roots (g/plant)		
		Whole root	Root of <i>P. suffruticosa</i>	Root of <i>P. lactiflora</i> *
I	94.7×74.9	2,311	1,290	1,021
II	82.0×57.8	2,162	1,154	1,008
III	107.0×82.9	2,252	1,332	920
IV	95.0×71.7	2,843	1,532	1,311
V	92.2×66.9	1,946	1,091	855
VI	120.0×84.0	3,260	1,980	1,280

All data are mean-values based on all plants of each strain

* Stock plant

れぞれ施し、1973年5月23日に同じ肥料各90 kg、同年7月19日に過石20 kg、硫加10 kgを施した。中耕、除草等の管理は追肥前後に実施し、シャクヤク台の除去や摘花は行なわなかった。収穫は植付後4年目の秋に行ない、調査はその前後に生育、収量について調べた。各品種または系統により苗数が異なり、調査は各系統とも全株について行なった。

方法 2.

株分けは、樹勢強健で茎の充実したものを選び、株に2~3芽をつけて、枝を切断し苗を作った。1973年9月26日に1苗1株として圃場に定植し、1974年8月28日に堀上げ調査した。植付ける場合は茎の基部まで埋まるように深く植えたのち、表面にチップ粕を散布した。翌年5月以降の新葉展開後は、寒冷紗で遮光した。挿し穂の作り方は前述の株分け苗と同じように、樹勢強健で充実した枝を選び、2~3芽をつけて切断した。穂木は圃場に苗床を設けて、株分け苗と同日に挿木し、同時期に発根調査を行なった。

実生は1973年に種子の採種できた5系統21品種を、圃場内に設けた播種床に1973年10月18日に播種し、1975年5月20日にその発芽を調査した。

結果および考察

1) 生育について

各系統の4年目の生育はTable 2のとおりであった。草丈は白色系と紫色系とがやや高く、株張りは同2系と黄色系が大きかった。茎数は株張りと同じく、上記3系統が多く、赤色系で少なかった。茎は白色系が太く黄色系が細いが、茎数と必ずしも相反しないようである。

地下部の収量についてはTable 3のようであった。全生量についてみれば、黄色系が最も重く、次いで紫色系、白色系の順であり赤色系や絞り覆輪系は小さかった。これら全生量の相違は、接木苗のため（台木は除去せず）シャクヤクの台が肥大し、ボタン根と混在していることによって生じたものである。ボタン根のみの収量を見ると、黄色系が特に多くしかもシャクヤク根との量比が他系より大きかった。次いで紫色系が多いがシャクヤク根もよく発達し同時に生育が進んでいくように思われる。赤色系と絞り覆輪は両根とも比較的小さく、地上部も他系より劣り、全体的に生育量が小さい系統と思われる。

奈良、鳥取などの産地における薬用種のボタンの栽培では、10a当り900本植えて4年目に収穫すると、その生根収量は10a当り約2,500 kgであり^{4,10)}、1株平均根重は約2,800 gとなる。著者らの試験では系

統により1株平均根重にかなりの差異が見られ、ボタン根のみを薬用種と比較すると黄色系では70%と多く、紫色系では55%と黄色系に次いたが、他の系統はすべて50%以下であった。

森下はその著書¹⁰⁾の中で「従来薬用種として用いてきた系統を栽培するのが得策であり、花の色がいわゆるボタン色（著者らの試験における紫色系）のものが収量多く、根の生長も品質もよい」と述べている。本試験においても薬用種と同系統の紫色系が、黄色系と共に、地上地下部ともよい生育を示した。黄色系は苗数が少ないので他系と比較するのにやや困難であるが用いた苗については、地上部が軟弱で管理が難しく、苗も高価で入手し難く実用的ではないように観察された。

シャクヤク台に接いだ6系統のボタンは、上記のような生育を示したが、今後は道北における薬用種の生育を試験し、あわせて株分け苗を用いた6系統の栽培を行なって今年と同様の結果が得られるか更に検討する必要があると思われる。

2) 増殖について

苗の増殖は株分、挿し木、実生の3方法を試験した。

Table 4. Multiplication of various strains of *Paeonia suffruticosa* Andr.

Strain	No. of division per plant	No. of cutting per plant
I	2.8	2.4
II	2.8	1.3
III	2.8	1.3
IV	4.0	2.2
V	2.3	1.0
VI	7.2	5.0

all data are mean-values based on all plants of each strain

Table 4には1株当たりの平均得苗数と挿穂数が記してある。それによると株分けの場合、黄色系では1株より7本強の株分け苗が得られた。次に多いのは紫色系で約4本、残りは桃色系、白色系、赤色系2.8本、絞り覆輪2.3本の順であった。これはTable 3に示した根の1株重量、特にボタン根の重量の系統別差異と全く同じ傾向を示し、根頭部の大きい系統は根も多収を示し、両部位の関連が強いように思われる。

1株より得られる挿穂数は株分け苗より少なく、黄色系が5.0と最高で、白色系の2.3本、紫色系の2.2本がこれにつぎ、他は約1本であった。挿穂は茎数の多いもの、および茎長の大きいものより数多くとれるの

Table 5. Ratio of taking root of division and cutting in various strains of *Paeonia suffruticosa* Andr. (Planted at Sep. 26, '73 Investigated at Aug. 28, '74)

Strain	Cultivar	Ratio of taking plant (%)	
		division	cutting
I	Hakubanryu	19.5	0
	Tamasudare	11.1	0
	Renkaku	7.9	0
	Imayoo	15.8	0
III	Yaesakura	4.4	0
	Tamafuyo	1.3	0
IV	Shimanotsukasa	43.7	1.0
	Yagumo	4.9	0
V	Kamatanishiki	1.5	0
VI	Kinkoo	22.2	12.0

Table 6. Germination of various strains of *P. suffruticosa* Andr. (seeding time: Oct, 18, '73 date of investigation: May, 20, '75)

Strain	Cultivar	Percentage of germination
II	Kao	1.1
III	Tsurunohane	0.9
	Yaesakura	29.8
	Hanakisoi	60.2
	Yachiyotsubaki	2.1
IV	Shimanotsukasa	0.8
V	Kamatanishiki	1.2

は当然で、Table 1において草丈と茎数の多い系統より挿穂数が多くとれた。

Table 5では各系統に属する品種別に株分け苗および挿穂の活着率をみたものである。なお活着の見られなかった品種は省略した。株分け苗で活着の見られたのは、6系統中の赤色系を除く5系統、22品種中10品種で、同じ花色系統に属する品種でも活着率にはかなり差があった。白色系では5品種中、白幡竜・玉簾・連鶴・今姚黄の4品種が、植付けた苗に対し各19.5%、11.4%、7.9%、15.8%の比率で活着し、他系に比し品種間差異が小さかった。

赤色系では全く活着がなく、桃色系では6品種中、八重桜・玉芙蓉の2品種だけが活着し、両品種とも各4.4%、1.3%と低率であった。鳥の司、八雲の2品

種は同じ紫色系に属しながら活着率は全くことなり、鳥の司は43.7%と供試品種中最高を示したのに対し、八雲は4.9%の低率であった。地上、地下部の生育がもっともよかった黄色系の金晃は22.2%で紫色系の鳥の司につぐ活着率を示した。

薬用種のボタンを株分けして植付けた場合、産地では90~100%活着する。著者らの試験ではいずれの品種においても活着率が非常に低かったが、その原因としては次のようなことが考えられる。i) シャクヤク台に接いだ園芸品種なので発根力が弱い。ii) 植付月日が9月26日で道北地方においては、すでに地温がかなり低下し発根に不適な条件になっている。iii) 発根しないまま、長期間積雪下におかれる。iv) 一般に3本の苗を組んで1株とするが、この試験においては、1株1本とし、植付後に支柱を立てなかった。

挿木は非常に困難で、22品種中成功したのは鳥の司・金晃のわずか2品種で、それも各1.0%、12.0%の低い活着率であった。ボタンのように髄部が大きく木質部のうすい植物では挿木が非常にむずかしいようで、穂木のとり方、挿木の方法などに十分な配慮が必要であり、その上高度な技術が要求されるように思われる。

種子の採取ができた5系統21品種について実生苗の育成を試みたところ、Table 6のような発芽を示した。21品種中7品種にのみ発芽が見られたが、中でも桃色系の花鏡、八重桜の2品種が各60%、30%と比較的高い発芽率を示し実用に供し得る品種と思われただけで、他品種はすべて1~2%あるいはそれ以下にすぎなかった。道北地方における本試験の播種期('73年10月18日)は、すでにかなり低温で、ボタンは発根し得ないものと思われる。またボタンには上胚軸休眠があるので発根後もう一度低温に遭遇して初めて発芽し得る。そのために発芽まで2年(または2回の低温)かかり、その間に種子がいろいろの障害をうけて発芽率が低下するのではないかと推測される。米田ら¹¹⁾は「シャクヤクの発芽について北海道における採り播きでは、畑地の寒冷化が早く自然状態では年内に発芽し得ないこと、また発根前の低温処理は、さらに発芽を遅延させる。翌年の発芽を誘導するための方法として採種後種子を20°前後に保持し、水を十分補給して60~70日保存後、低温処理するか、またはジベレリン処理とすれば有効である」と述べているが、ボタンの種子についても同様の処理で効果があるものと思われる。ボタンは前述のように株分けによる増殖が一般的であり、実生による増殖ならびに栽培は行なわれていない。ボタンの苗は高価であり、実生によれば

大量に増殖できる。育苗成期間だけで栽培期間が長くなるが、一度育苗が軌道にのれば毎年供給できるわけである。株分苗を多年使用すると活力の減衰することも当然考えられる。実生苗では植付期が自由に選択でき、低温になる前に発根させ得るなどの利点が考えられる。一方交雑種が多いため品質の不安定が推測されるので、その生育、品質について今後検討する事が必要であろう。

摘 要

ボタンの2年生苗（シャクヤク台に接木）を6系統22品種供試し、寒冷地における適応性を調査するため、1969年から1975年まで試験を実施し、次のような結果を得た。

- 1) 地上部の生育は白色系、紫色系がややよく、地下部の収量特にボタン根が多いのは黄色系と紫色系であった。
- 2) 株分けにおける1株当たり得苗数は黄色系で7本と最も多く、紫色系が4本でそれについだが、他の系統はいずれも少なかった。
- 3) 株分け苗の活着は22品種中、10品種に認められ、白色系4、桃色系2、紫色系2、絞り覆輪系、黄色系各1品種であった。
- 4) 種子は5系統21品種より採取し、2年後に4系統

7品種の発芽を認めた。なお発芽率のよかった品種は桃色系の花競60%、八重桜30%であった。

最後に、本研究の遂行にあたり、終始御指導賜りました、北海道生薬協会長水谷次郎氏、大阪大学薬学部米田該典博士ならびに貴重な御助言を賜りました若林栄四郎氏、江川一栄氏に対し、感謝の意を表わします。

文 献

- 1) 中国医学科学院薬物研究所、他編著：中薬志Ⅲ，429（1961）
- 2) 吉村幸三郎：牡丹と芍薬の栽培，40～41，117～138，160～188（1972）～金園社
- 3) 刈米達夫，若林栄四郎：薬用植物栽培法，360～361（1963），養賢堂
- 4) 福田新次：新しい薬用植物栽培法，342～343（1970），広川書店
- 5) 江川啓一：日本の花木，254～255（1974），講談社
- 6) 富良野市史：第二巻，175（1970）
- 7) 北海道衛生部：北海道の薬用植物，44（1972）
- 8) 厚生省薬務局審査課：生薬資料，35（1972）
- 9) 藤田早苗之助：薬用植物栽培全科，379（1972），農山漁村文化協会
- 10) 森下徳衛：薬草栽培教室，175（1974），富民協会
- 11) 米田該典ほか：日本生薬学会大阪大会講演要旨，4（1974）

フマル酸の融点について

慶田雅洋・山路 昭・上田清子

On the Melting Range of Fumaric Acid

Masahiro IWAIDA, Akira YAMAJI and
Kiyoko UEDA

Twenty three lots of fumaric acid for use as food additive were subjected to the determination of melting range. Each sample, previously dried at 105°C for 3 hours, was sealed in a tube and put into the silicone oil bath fluid Melting Point Apparatus PF-1 supplied from the Yamamoto Scientific Instruments Co. Ltd, the melting range being measured by use of the Type No. 6 thermometer with an immersion line prescribed in the Eighth Edition of the Pharmacopoeia. The results are as shown in Table 1. The melting range varied from 291.2 to 294.9°C, and was found to be within the limit of the composition standard prescribed in the Japanese Standards of Food Additives (Third Edition), that is, between 287 and 302°C. It is suggested that the melting range of the fumaric acid in the Japanese Standards of Food Additives had better be narrowed to 289~299°C to ensure the quality of fumaric acid for use as food additives.

(Received May 31, 1975)

フルマ酸はクエン酸の1.5倍の酸味を有する特色ある呈味性を示す酸味料であって、またほとんど吸湿性がなく、ゼラチンのゲル強度を高めるなどの性質があるのでぶどう酒、マラスキノ、冷菓、濃厚果汁、ゼリー菓子などに単独またはフマル酸ナトリウムなどと併用して用いられる。昭和32年に食品添加物として指定された。

フマル酸の成分規格の目の純度試験(1)には融点の測定が定められている。本品は開放管中では約200°で昇華するので封管中で測定することが必要である。第2版食品添加物公定書では“本品を105°で3時間乾燥するとき、その融点(分解点)は285~290°(封管中)でなければならない”と定められているが、品質の向上の結果、この範囲に収まらなくなったので範囲を拡げて欲しいとの請願が出された。

なお、Merck Index 第8版(1968)によれば融点(分解点)は287°と示されており Food chemicals Codex (FCC) には融点に関する規定はない。化学大辞典(共立出版)では300°~302°と記されている。審議の結果、フマル酸の成分規格の目の純度試験(1)中「285°~290°」を「287°~302°」に改めることが告示された¹⁾。

筆者らはその後昭和48年および49年に大阪食品添加物協会を通じて入手した試料について実勢値を測定する機会を得たので、その結果についてここに報告する。

試料および実験方法

1. 試料

3社の食添規格の製品を使用した

2. 実験方法

食品添加物公定書では全没式ガラス棒状水銀温度計3号および補助温度計を用いて測定し、補正式によって補正して融点を算定するように定められているが、第八改正日本薬局方で採用された浸線付ガラス製棒状水銀温度計を用いる方法²⁾の方が測定が簡便であり、精度もほとんど変わらないので後者を使用することにした。すなわち、ヤマト科学製MP-1型融点測定装置に信越化学製シリコン KF 96 (350センチストークス)を入れ、8局浸線付温度計6号を挿入して使用した。本温度計の許容誤差は0.4°である。

実験結果並びに考察

105°で3時間乾燥した後、1検体について3回の測定を行ない平均値を算出した。結果はTable 1に示す通りである。

3社23検体の融点(分解点)の範囲は291.2~294.9°の範囲であって、各社製品に特定の傾向は認められなかった。Table 1より融点(分解点)の実勢値は第2版食添公定書に定められた285°~290°よりも明らかに高いレベルにあり、本規格の改訂の必然性のあったものと考えられる。改訂¹⁾に当っては融点(分解点)

Table 1. Results of the determination of the melting range of fumaric acid for use as food additive

No.	Manu- facturer	Remarks	Melting range (°C)
1	A	Produced in 1973	292.3
2	"	"	292.8
3	"	"	293.0
4	"	"	294.2
5	"	"	293.3
6	"	"	293.9
7	"	"	293.9
8	"	"	294.1
9	"	"	294.9
10	"	"	293.5
11	"	Produced in 1974	292.0
12	B	Produced in 1973	292.0
13	"	"	292.4
14	"	"	294.0
15	"	"	291.2
16	"	"	292.5
17	"	"	292.6
18	"	Produced in 1974	291.4
19	C	Produced in 1974	291.5
20	"	"	292.6
21	"	"	291.2
22	"	"	292.7
23	"	"	292.4

の下限を 2° 高めて 287° としたことは製品の品質を確保するためにも結構なことであるが、上限の 302° は実勢値の最高値が精々 295° であることを考えるとや

や範囲を上げすぎた感があり、実際問題として 300° を越える製品は全く認められなかったことを考え合せると、現在の規格値より下限を 2° 上げ、上限を 3° 下げて 289°~299° 程度に融点（分解点）の範囲を改めるのが適当であると考えられる。

さらにもう一つの考え方として、300° 近い高温で融点（分解点）を測定する場合には、困難な条件のために諸種の誤差を伴いやすいので、融点（分解点）の範囲をある程度幅広く確保し、これを純度試験から確認試験法へ移した方がよいという意見もあることを付記しておく。

要 約

昭和 48, 49 年に食品添加物として製造されたフマル酸 23 検体について融点（分解点）を測定した結果、291.2°~294.9° の範囲にあることを認めた。これは第 2 版食品添加物公定書の規定 (285°~290°) より高くなっているが、第 3 版食品添加物公定書の規格値 (287°~302°) と比較すると、すべて規格値の範囲内であるが、実際問題として 290° 未満、295° 以上の製品は見当らなかったことを考え合せると、融点（分解点）の範囲は 289°~299° 程度にするのが適当であると思われる。

終りに臨み、試料の入手、結果の評価などについて種々御協力戴いた大阪食品添加物協会並びに同技術委員会のメンバーに感謝します。

文 献

- 1) 昭和 46 年 2 月 26 日厚生省告示第 39 号
- 2) 宇野豊三、穂積啓一郎：フェルマシア，6，22 (1970)

放射性医薬品として用いられる核種等の γ 線スペクトルについて

浦久保五郎・亀谷勝昭

 γ -Ray Spectra of Some Kind of Radiopharmaceuticals and Other Nuclides

Goro URAKUBO and Katsuaki KAMETANI

γ -Ray spectra of some kind of radiopharmaceuticals and other preparations were measured using a Ge(Li) detector for the identification of radionuclides. The tested nuclides were ^{47}Ca - ^{47}Sc , ^{54}Mn , ^{57}Co , ^{60}Co , ^{65}Zn , ^{75}Se , ^{113}Sn - ^{113}In , ^{125}I , ^{137}Cs , ^{144}Ce - ^{144}Pr and ^{203}Hg . Owing to the good resolution of the detector, very clear and characteristic spectra of these nuclides were obtained.

(Received May 31, 1975)

放射性医薬品の品質試験として、現在 γ 線を放出する核種の定性、確認に、 γ 線シンチレーションスペクトロメーターを用いて測定した γ 線スペクトルが用いられている。この場合、医薬品中に他の γ 線を放出する放射性核種が存在すれば、その核種をスペクトル上から不純物として検出することもできる。しかし、混在核種の γ 線エネルギーが本来の核種の γ 線エネルギーに近いと、分解能のよくないシンチレーターを用いた場合は、これらの不純物を容易に確認することはできない。

本報では、これらの不純物を確認するための基礎資料として数種の放射性医薬品と 2, 3 の他の核種の γ 線スペクトルを、分解能のすぐれた Ge(Li) 半導体検出器を用いて測定したので、その結果を報告する。

1. 測定試料、装置および測定方法

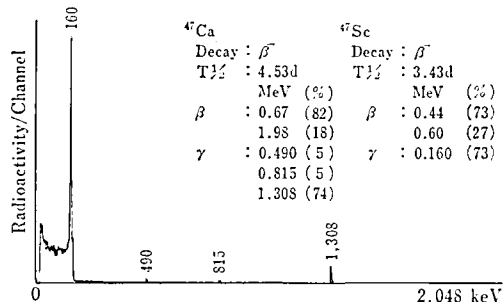
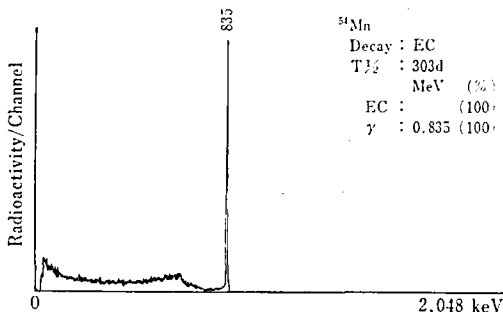
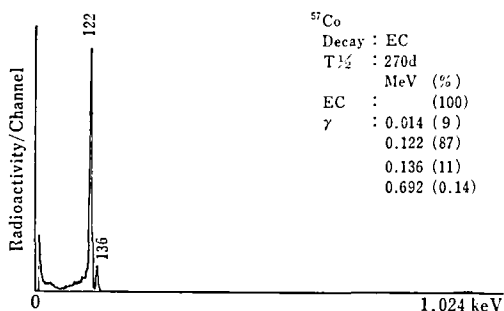
1) 測定試料：ダイナボット RI 研究所および第一ラジオアイソトープ研究所から入手した数種の放射性医薬品および日アイソトープ協会から入手した核種溶液をそのまま測定試料とした。

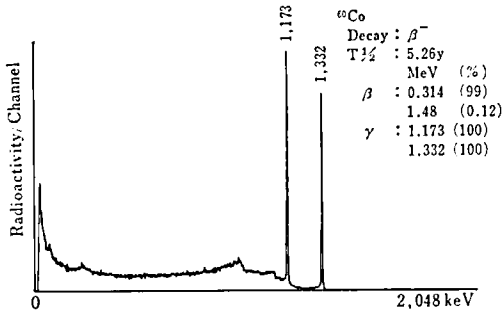
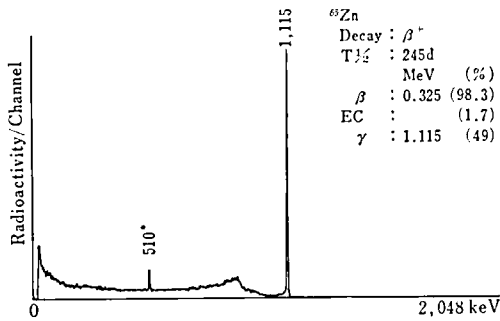
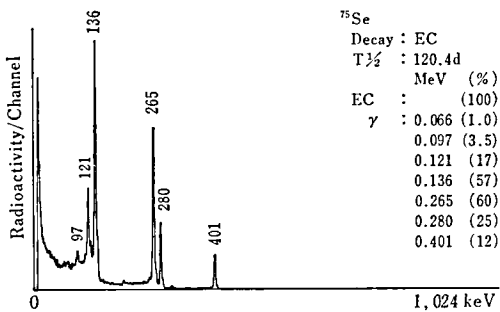
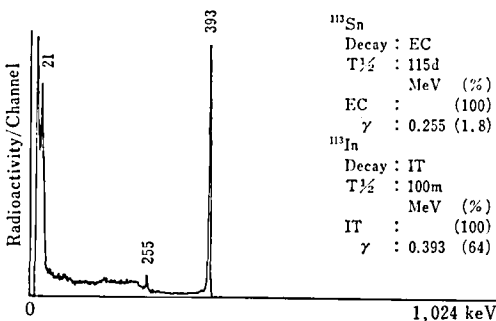
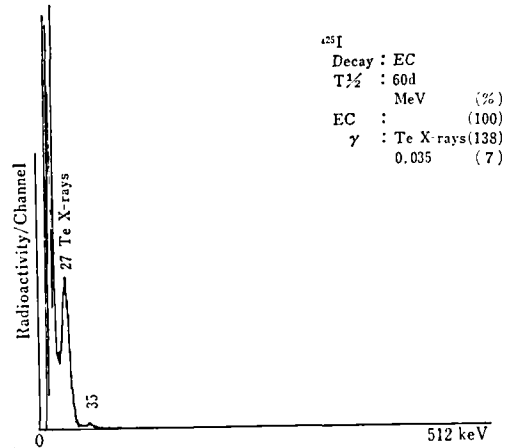
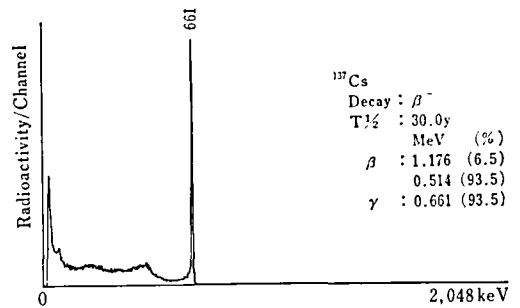
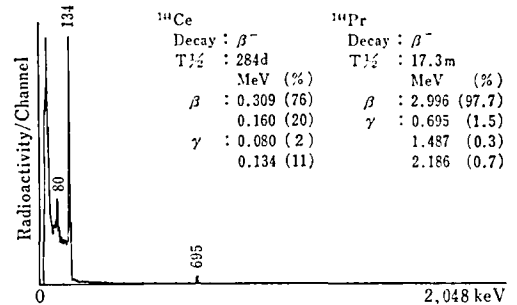
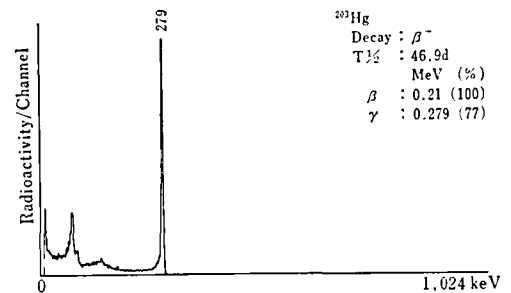
2) 波高分析装置：日立製 505 型 1,024 チャンネル波高分析装置を使用した。

3) Ge(Li) 半導体検出器：容量 38 ml のコアキシャル型 (p: 10.0 mm, d: 35.5 mm, l: 42.0 mm) の半導体検出器を上記の波高分析装置に接続して使用した。なお半導体検出器は厚さ 5cm の鉛で、外部からの放射線をしゃへいしたものを使用した。

4) 測定方法：測定試料の溶液の一部を直径 5 cm のろ紙の中央につけ、厚さ 0.5 mm のプラスチック容器に入れる。これを Ge(Li) 半導体検出器の上部に直接置いて測定した。

測定時間は、試料溶液の濃度が種々異なるために一定にはしないで、スペクトルが見易くなるように、 γ


 Fig. 1. γ -ray spectra of ^{47}Ca and ^{47}Sc

 Fig. 2. γ -ray spectrum of ^{54}Mn

 Fig. 3. γ -ray spectrum of ^{57}Co

Fig. 4. γ -ray spectrum of ⁶⁰CoFig. 5. γ - and X-ray spectrum of ⁶⁵Zn.
* peak of annihilation radiationFig. 6. γ -ray spectrum of ⁷⁵SeFig. 7. γ -ray spectra of ¹¹³Sn and ¹¹³InFig. 8. γ - and X-ray spectrum of ¹²⁵IFig. 9. γ -ray spectrum of ¹³⁷CsFig. 10. γ -ray spectra of ¹⁴⁴Ce and ¹⁴⁴PrFig. 11. γ -ray spectrum of ²⁰³Hg

線のエネルギーに相当するそれぞれのチャンネルの計数値が、適当な値になるまで計数をつづけて、スペクトルを画いた。

2. 測定結果

^{47}Ca – ^{47}Sc , ^{54}Mn , ^{57}Co , ^{60}Co , ^{65}Zn , ^{75}Se , ^{113}Sn – ^{113}In , ^{125}I , ^{137}Cs , ^{144}Ce – ^{144}Pr , ^{203}Hg の γ 線スペクトルを Fig. 1~11 に示す。このうち ^{57}Co , ^{60}Co , ^{75}Se , ^{113}Sn – ^{113}In , ^{125}I , ^{203}Hg は放射性医薬品として用いられる核種である。なおスペクトルの図の右上に壊変形式および半減期を文献^{1,2)} から引用して記入した。これらの測定結果からも明らかなように Ge(Li) 半導体検出器

を用いると、 γ 線スペクトルはいずれもシャープな図形を示し、不純物と考えられるような核種は見当らなかった。

文 献

- 1) B.J. Wilson: "The Radiochemical Manual" The Radiochemical Centre, Amersham (1966)
- 2) C.M. Lederer, J.M. Hollander, I. Perlman: "Table of Isotopes" John Wiley & Sons (1967)

銅クロロフィリンナトリウムの比吸光度ならびに吸光度比について

神蔵美枝子・沢 文子

Specific Absorbance, Ratio of Absorbances at Absorption Maxima of Sodium Copper Chlorophyllin

Mieko KAMIKURA and Fumiko SAWA

Specific absorbance, ratio of absorbances at $405 \pm 1 \text{ m}\mu$ and $630 \pm 1 \text{ m}\mu$ of sodium copper chlorophyllin were measured. The results were shown in Table 1. These values decrease on the specific absorbance and increase on the ratio, during standing. Therefore, the absorbance is required immediately measuring or less than 1 hour after dissolved sample in buffer.

(Received May 31, 1975)

昨年、第三版食品添加物公定書が作成されたが、その際、食品添加物についての規格基準ならびに試験法の検討が行なわれた。それらのうち表題品目についての検討事項ならびに結果について報告する。

試料および試験方法

1. 試料

銅クロロフィリンナトリウム：A社の製品 $A_1 \sim A_3$ (原料蚕糞), $A_4 \sim A_5$ (原料 *alfalfa*) 計5試料。B社の製品 $B_1 \sim B_7$ の7試料。

2. 試験項目

比吸光度 (規格値 $E_{1\text{cm}}^{1\%} 508 \sim 568$), 吸光度比 (規格値 3.7 ± 0.3 , $405 \pm 1 \text{ m}\mu / 630 \pm 1 \text{ m}\mu$), 塩基性タール色素, 乾燥減量。

3. 試験方法

第二版食品添加物公定書ならびに改正の方法 (第三版食品添加物公定書) による。

実験結果および考察

銅クロロフィリンナトリウムの比吸光度については第二版では試料を 105° で1時間乾燥した後、リン酸緩衝液 (pH 7.5) に溶かし、波長 $405 \text{ m}\mu$ で吸光度を測定するよう記載されている。実際には本品の熱安定性の問題もある。たとえば、水分を除いた試料を得る目的で乾燥減量測定の条件である 105° で2時間乾燥した場合の比吸光度は、未乾燥試料についての値よりも3~10数%低い値を示した。また、溶液の経時変化による測定値の変動も考えられるため測定時間を変えて行なった結果を Table 1 に示す。その結果、試料を溶解後直ちに測定して得た値をゼロとした場合、これより1時間後では0.3~3.34% 低く、2時間後では0.37~4.42%, 24時間後で3.15~23.49% 低い値を示した。また吸光度比については、同様の条件で1時間後では0~2%, 24時間後では8.82~30.95% 高い値を示した。これらの結果から吸光度の測定は試料溶解後少なくとも1時間以内に行なうべきであると考

Table 1. Analytical data of sodium copper chlorophyllin

Sample	ratio of absorbance at $405\pm 1\text{ m}\mu$ absorbance at $630\pm 1\text{ m}\mu$							specific absorbance						loss on drying 105° , 2hr (%)	basic coal-tar dyes**
	0 hr*	1 hr	2 hr	5 hr	24 hr	dried at 105° , 2 hr*	0 hr*	1 hr	2 hr	5 hr	24 hr	dried at 105° , 2 hr			
A	1	3.9	4.0	4.1	4.3	5.1	4.2	566	558	541	496	433	508	5.43	—
	2	3.8	3.9	4.0	4.1	4.8	4.1	544	542	542	491	434	507	5.01	—
	3	4.0	4.0	4.2	4.1	5.1	4.2	598	578	564	524	445	512	4.87	—
	4	3.8	3.8	3.9	3.9	4.3	3.7	587	584	582	551	498	536	4.70	—
	5	3.7	3.7	3.8	3.9	4.5	3.6	560	546	543	497	425	512	4.49	—
B	1	4.2	4.3	4.6	5.0	5.5	4.5	517	508	500	475	451	502	6.58	+
	2	5.4	5.5	6.1	6.4	6.4	4.5	489	482	479	463	432	475	15.15	—
	3	4.5	5.0	5.5	5.9	5.9	5.4	522	515	513	490	448	516	14.40	+
	4	4.0	4.0	4.1	4.2	4.7	4.5	530	530	530	480	416	504	12.24	+
	5	4.4	4.4	4.7	5.0	5.6	4.6	494	487	479	460	423	479	9.27	—
	6	3.4	3.4	3.4	3.4	3.7	3.5	619	605	596	576	485	589	9.70	—
	7	4.3	4.3	4.6	4.6	5.1	5.1	557	543	538	532	521	503	12.26	$\pm$

* Absorbances were immediately measured after dissolved samples in buffer solution (pH 7.5).

** Basic coal-tar dyes indicate presence of colors in the acid layer.

える。なお、ここでは数値を示していないが、試料溶解後 1 時間までは、しゃ光した容器を使用した場合と、そうでないものとの数値について有意の差はみられなかった。いずれの場合にも製品による数値のバラツキがみられるが、とくに原料との関係はこの実測値からは明確でない。試験方法は乾燥しない試料を用い、乾燥物に換算するように改められた。

塩基性タール色素の試験方法はアルカリ性でニーテ

ル抽出を行なった後、酢酸抽出を行なうよう改められたが、製造後 1～3 年経過している試料 B1, B3, B4 では、試料の変化により、この項目に不適となるケースもあった。乾燥減量については規格値 (105°, 2 hr, 5% 以下) に適合しないものもみられた。

文 献

- 1) 第二版食品添加物公定書, p. 283 (1966)

昭和49年度における輸入食品の化学検査について

慶田雅洋・金田吉男・伊藤誉志男・外海泰秀・
 中村恵三・山路 昭・西川マチ子

Results of the Chemical Inspections of the Imported Foods from April in 1974 till March in 1975

Masahiro IWAIDA, Yoshio KANEDA, Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI,
 Keizo NAKAMURA, Akira YAMAJI and Machiko NISHIKAWA

Total 280 samples were tested, showing a decrease of 35% in sample number compared with the former period. 142 of them were sent from Osaka port, 21 from Moji port and the rest 19 samples from Nagoya, Kobe, Kagoshima and Naha ports. Thirtyfour samples were disqualified (see Table 1). Contents of the tests classified according to the items of inspection are as shown in Table 2. Artificial colorings not permitted for use were detected from 20 among 59 samples tested. Four kinds of frozen concentrate were disqualified because they contained sunset yellow FCF, tartrazine, brilliant blue FCF and/or allura red AC. No addition of food chemicals is permitted on frozen fruit concentrate except antioxidants. Sulfur dioxide contents were determined on 35 samples, of which 10 (bone powders, soft drinks powder and sweets) were disqualified because they contained excess of sulfur dioxide. Diphenyl and o-phenylphenol content were determined on 2 samples of fresh orange. In Japan only diphenyl is allowed to use on oranges, lemons and graperfruits within the residual level of 0.070 g/kg, while no addition of o-phenylphenol is permitted on citrus fruits. The result showed that no o-phenylphenol was present and that their diphenyl contents were within the permitted level. A systematic procedure for the determination of these two preservatives and thiabendazole was developed by us, being orally reported at the 29th Annual Meeting of the Food Hygienic Society of Japan held in Tokyo in May, 1975.

Detection of sulfamic acid intentionally added as faint pink color developant was carried out 21 samples of brine cured gingers imported from Taiwan. Results were negative and all of them were qualified. Methanol contents of Chinese, Australian and European wines and liquors were found to be within the permitted level (not more than 1 mg/ml).

(Received May 31, 1975)

食品衛生法に基づく、昭和49年度の輸入食品の検査状況について報告する。前年度と比較して検体数は減少したが、困難な内容のものが多かった。食品中の添加物の試験法を数種設定することができたのは大きな収穫であった。

検 査 結 果

概 評

検体を食品別に分類した結果は Table 1 に示す通りである。総数は182件であって、前年度¹⁾にくらべて98件、35%の減少であって、昭和47年度²⁾にくらべると検体数は1/3に減少した。内訳は合格138検体、不合格34検体、無判定10検体であって、不合格率は18.7%であって前年度の22.8%にくらべてやや低い率を示した。

項目別に纏めると Table 2 の通りである。とくに不合格の日立つものは、オランダ産チョコレート菓子中

の人工着色料の試験で14件中14件不合格 (Ponceau 6R および Patent Blue V 検出、他に英国産チョコレート菓子17件について安息香酸ナトリウムの試験を行ったが、こちらは全部合格)、アメリカ産冷凍果実飲料の試験で14件中5件不合格、香港産金花糖4件 (白いもの2件、黄色いもの2件)、英国産骨粉 (粉末ビーフボーン、粉末ファットボーン) 2検体、英国産粉末清涼飲料4検体 (粉末グレープフルーツ、粉末オレンジ、粉末レモン、粉末黒干ぶどう) 合計10件の亜硫酸の試験で全数不合格などが挙げられる。

1. 植物性食品 (かん詰を除く)

ピーナッツのアフラトキシンの試験は本年度は僅かに4件、いずれも合格であった。ほしパイナップル2検体について亜硫酸の試験を行った。亜硫酸含量はSO₂として0.25および0.22 g/kgであって、いずれも基準値 (0.5 g/kg 未満) の範囲であった。昭和49年8月に大阪港より送付されたオレンジ2検体およびカ

Table 1. Results of chemical inspection of foods imported from April in 1974 till March in 1975
(classified according to food names)

Classification	Samples	Passed	Rejected	Not judged
1. Vegetables (excluding canned products)				
Bean sprout	3	—	—	3
Peanut (detection of aflatoxin)	4	4	—	—
Dehydrated pineapple	2	2	—	—
Fresh orange	2	2	—	—
Brine cured ginger	21	21	—	—
Frozen Kiwi pulp	1	1	—	—
Birds nest	1	—	—	1
Powdered gum acacia	1	1	—	—
Total	35	31	0	4
2. Sea foods (excluding canned products)				
Frozen shrimp	14	11	—	3
Salted slice of cod	1	1	—	—
Total	15	12	0	3
3. Animal product (excluding canned products)				
Bone power	2	—	2	—
Frozen broiled turkey	1	1	—	—
Frozen beef patty	1	1	—	—
Total	4	2	2	0
4. Canned (and bottled) products				
Tomato purée	1	1	—	—
Canned juice	10	10	—	—
Canned cherries	1	1	—	—
Canned longans in syrup	6	6	—	—
Egg rolls with pork	1	1	—	—
Pork luncheon meat	1	1	—	—
Ripe olives	1	1	—	—
Bottled water shield	1	1	—	—
Total	22	21	—	1
5. Alcoholic drinks				
Chinese liquors	9	9	—	—
Australian and European wines and liquors	33	31	2	—
Awamori	1	1	—	—
Total	43	41	2	0
6. Refreshment drinks				
Frozen fruit drinks	14	9	5	—
Soft drinks powder	5	1	4	—
Korean ginseng extract and drink	3	—	2	1
Total	22	10	11	1
7. Confections				
Chocolate products	31	17	14	—
Sweets	4	—	4	—
Total	35	17	18	0
8. Food additives				
Casein sodium	1	—	1	—
9. Apparatus				
Flexible drinking straw	4	4	—	—
Stone pan	1	—	—	1
Total	5	4	0	1
Sum total	182	138	34	10

Table 2. Results of chemical inspection of foods imported from April in 1974 till March in 1975 (classified according to items of inspection)

Item	Samples	Passed	Rejected	Not judged
Aflatoxin	4	4	—	—
Harmful heavy metals	37	36	—	1
Formaldehyde	7	4	—	3
Volatile basic nitrogen	1	1	—	—
Artificial color	59	39	20	—
Sulfur dioxide	35	24	10	1
Benzoic acid and benzoate	36	34	2	—
Sorbic acid and sorbate	40	40	—	—
Dehydroacetic acid and dehydroacetate	19	19	—	—
Nitrite	3	3	—	—
Phenol	4	4	—	—
Boric acid and borate	4	—	—	4
Saccharin	14	14	—	—
Sulfamic acid	21	21	—	—
Methanol	27	27	—	—
Ethanol	1	—	—	1
Phosphorus acid	3	—	—	3
Ferrous gluconate	1	—	—	1
p-Hydroxybenzoate	16	16	—	—
Diphenyl and o-phenylphenol	4	2	—	2
Composition standards of food additives	1	—	1	—
Test for container and package	3	3	—	—
Dropping test (paper container)	14	13	1	—
Total	354	304	34	16

ルトンの防微紙についてジフェニルおよび *o*-フェニルフェノールの試験を依頼された。ジフェニルはわが国でオレンジ類に 0.07 g/kg 以下の残存量で使用が許可になっているが、カルトンにはその他にわが国で使用不許可の *o*-フェニルフェノールが添加されている旨記載されており、先方では他国向けのカルトンを誤用したものであって、中身は問題ないといっているが念のため調べて欲しいとのことであった。試験の結果はジフェニル含量はオレンジ中 0.017 および 0.027 g/kg でいずれも残留基準内であった。防微紙からは 41.25 および 47.50 g/kg のジフェニルが検出された。検体および防微紙ともに *o*-フェニルフェニールの存在は認められなかった。なお、欧米ではかんきつの保存料として上記 2 者の他にチアベンダゾールも使用されているので、3 者の系統的な試験法の確立の必要性を痛感して研究に着手し、その成果を昭和50年5月に

日本食品衛生学会第 29 回学術講演会で発表した。

しょうがのスルファミン酸の試験依頼は21件であったが、いずれも台湾産で、前年度不合格となったものを水洗後再検査のために送付された検体も少なくなく、21件全部“良”と判定された。

昭和49年8月にニュージーランド産 Kiwi の試験的輸入品 (frozen Kiwi pulp) について保存料 (ソルビン酸、デヒドロ酢酸、安息香酸) の試験を行ない、検出しないことを確めた。

同年9月に蕪菜 (うみつばめの菜) のホウ酸および亜硫酸の試験を行った。本品は白色半透明の膠質物であって、水煮して上層を固まらせてスープとするものであり、高級中華料理に用いられる。亜硫酸含量は *p*-ローザニリン比色法³⁾ で測定した結果 SO₂ として 0.006 g/kg であって、一般食品の基準 (0.03 g/kg 未満) の範囲内であった。ホウ酸含量はクルクミン比色

法による微量定量法⁴⁾で測定した。 H_3BO_3 として0.0045 g/kgであった。

もやし豆 (タイ国産ブラックマッペ) の試験については本号にノートとして報告した。

2. 海産物 (かん詰を除く)

昨年度に引き続き冷凍むきえび3検体についてホウ酸の定量を行った。結果は台湾産のものについて17.6, 49.4 ppm, 産地不明のものについて21.5 ppm (いずれも H_3BO_3 として)であった。台湾産のものが一般にホウ酸含量が高いことは以前にも報告されている⁴⁾。また、10月に冷凍むきえび11検体について包装箱からのジアミノステルベンに移行について鑑定を求められたが、結果は陰性であった。

3. 畜産物 (かん詰を除く): 省略

4. かん・びん詰

昭和45年から47年にかけて製造された輸出用オレンジジュース缶詰4検体およびグレープジュース缶詰2検体について、国内用に放出を許可したいのでスズおよび鉛含量を測定して欲しい旨門司港から依頼があった。清涼飲料水の規格基準に従って試験した結果、各検体とも鉛を検出しなかった。また、スズの含量はオレンジジュースで11~84 ppm, グレープジュースで32~74 ppmであって、いずれも清涼飲料水の基準(150.0 ppm以下)内であった。また、8月に中国福建省の中国粮油食品進出公司監製の糖水竜眼(Canned longans in syrup)6件について鉛とスズの試験を行ったが、鉛は検出限度以下であり、スズは40~65 ppmであった。

デンマーク産ポークランチョンミートおよび中国産猪肉蛋捲(egg rolls with pork)について亜硝酸の試験を行った。方法は酢酸亜鉛・黄血カリによる除たん白液についてスルファニルアミドおよびN-1-ナフチルエチレンジアミンで発色させる方法⁵⁾を使用した。結果は NO_2 としてランチョンミートで0.010 g/kg, 猪肉蛋捲では全量, 肉製品, 卵製品中いずれも0.001 g/kg以下であって問題はなかった。その他オリーブ缶詰(ripe olives)中のグルコン酸鉄の検索および韓国産じゅんさいびん詰(bottled water shield)中の保存料の試験を行った。

5. アルコール飲料

昭和49年夏に万国博会場跡で中国展が開催されたが、これに先がけて3月~4月にかけて出品・販売用の中国酒9点について人工着色料およびメタノールの試験を依頼された。着色料の試験結果はすべて天然系のものであって人工着色料は検出されなかった。メタノールはクロモトロブ酸比色法⁶⁾によって測定した結

果, 0.005~0.042 mg/mlであった。有毒飲食物等取締令(昭和21年勅令第52号)では1 cm³中1 mg以上のメタノールを含む酒精飲料は有害な飲料として取締られていたが、本令は昭和29年6月1日法律第136号(厚生省関係法令の整理に関する法律)によって廃止され食品衛生法第4条第2号で取締られることになったが、廃止時の厚生省の通達⁷⁾により、勅令の判定基準は生きていると考えられるので、これに照し合せて各検体ともメタノール含量は限度内であると判定した。

また、琉球泡盛1検体についてメタノールを測定したところ0.008 mg/mlであった。その他、オーストラリア産およびヨーロッパ産のワインその他の酒類についてソルビン酸、亜硫酸、メタノールおよび人工着色料の試験を行った(合計33件)。メタノールが0.1 mg/mlを越えたものが3検体認められた。リキュール2本からタートラジン(食用黄色4号に相当)と未同定のブリリアントブルーFCFと類似の色調を有する不許可青色色素(未同定)が検出され不合格と判定された(酒類には食品添加物として指定された人工着色料の使用は許可されている)。

6. 清涼飲料水 (粉末清涼飲料を含む)

9月に米国産冷凍果実飲料14点(組み合せ容器包装)の適否の試験を依頼された。冷凍果実飲料には通常の清涼飲料水の成分規格(ヒ素、鉛その他の重金属, スズ), 容器包装の規格などのほかに製造・保存基準として化学的合成品たる添加物(酸化防止剤を除く)を使用しないことなどが規定されている。14検体中1検体が落下試験で破壊し不合格となり, frozen concentrate for limeade からタートラジンと他に微量の青色色素, frozen concentrate for orange drink からタートラジンとサンセットエローFCF(食用黄色5号相当), frozen concentrate for fruit punch からアルラレッドAC(FD & C Red No. 40), frozen concentrate for lemon grape drink からアルラレッドACとブリリアントブルーFCF(食用青色1号相当)が検出され, いずれも不合格と判定された。

韓国関係では高麗人参濃縮液, Korean ginseng extract, Korean ginseng drink についてエタノール, 保存料の試験を行った。

7. 菓子類 (省略)

8. 食品添加物

カゼインナトリウム1件の食品添加物公定書による規格試験を依頼された。試験の結果, 窒素含量が13.4%で公定書の範囲(14.5~15.8%)から外れており, 強熱残留物も規定の6%を越える6.27%であったた

め不適と判定した。

9. 器具・容器包装の試験

器具の試験は韓国製石鍋の試験およびポリプロピレン製の flexible drinking straw（韓国製）の試験を行った。容器包装およびおもちゃの検体は持込まれなかった。

石鍋は花崗岩製の水たきやすきやきなどに使うものであるが、現在このような製品については試験法が定められていないので、暫定処置として検体に水を満し10分間煮沸したものを試験溶液としてアルカリ度を、4% 酢酸を満し10分間煮沸したものを試験溶液としてヒ素および重金属の試験を行った。アルカリ度は0 ppm、ヒ素を検出しない、鉛は0.05 ppm、銅0.06 ppm、マンガン2.20 ppm、鉄0.66 ppmであってとくに問題点は認められなかった。ストローについては合成樹脂製（塩化ビニル樹脂製を除く）の器具または容器包装の試験（フェノール、ホルムアルデヒド、重金属、蒸発残留物、過マンガン酸カリウム消費量の項目の試験）を実施し、各項目とも合格した。

10. 輸入食品の検体数の港湾別分類

総件数182件の内訳は大阪港142件、門司港21件、名古屋港7件、神戸港6件、鹿児島港4件、那覇港2件であって大阪空港、博多港からの検体の投入はなかった。

文 献

- 1) 慶田雅洋, 金田吉男, 伊藤啓志男, 外海泰秀, 小川雅清, 松岡道江, 中村恵三: 衛生試験, 92, 86 (1974)
- 2) 中村恵三, 中原 裕, 松岡道江, 金田吉男: 衛生試験, 91, 86 (1974)
- 3) 慶田雅洋, 金田吉男, 伊藤啓志男, 外海泰秀: 衛生試験, 91, 99 (1974)
- 4) 伊藤啓志男, 慶田雅洋: 食衛志, 16, 41 (1975)
- 5) Draft International Standard ISO/DIS 2018: Meat and Meat Products-Determination of Nitrite Content (Reference Method) (1974)
- 6) 日本薬学会編: 衛生試験法注解, p.478 (1973) 金原出版
- 7) 昭和29年7月15日衛食第182号

昭和49年度におけるタール色素およびタール色素アルミニウムレーキの 製品検査成績について（タール色素の製品検査について 第14報）

慶田雅洋・伊賀宗一郎*・中村恵三・山路 昭・上田清子・西川マチ子

Results of the Product Examination of Coal-tar Dyes and Coal-tar Aluminum Lakes from April in 1974 till March in 1975 (On the Product Examination of Coal-tar Dyes XIV)

Masahiro IWAIDA, Soichiro IGA,* Keizo NAKAMURA, Akira YAMAJI,
Kiyoko UEDA and Machiko NISHIKAWA

The numbers of dyes inspected in this period were 410 in all, showing a decrease of 316 (43.5%) compared with the previous period. Numbers of Food Red No. 102 (new coccine) and Food Yellow No. 5 (sunset yellow FCF) inspected reduced by more than a half. Decreases were found in the numbers of nine coal-tar dyes inspected, while only Food Red No. 2 (amaranth) increased double in the number inspected. Dye lakes inspected were 39 in all, reducing by more than a half compared with the previous period. More than 60% of the dye lakes inspected were occupied by Food Red No. 5 Aluminum Lake. As for the numbers of the dyes examined each month, confer Table 1 and Table 3. Fifteen samples of Food Red No. 2 were condemned by the presence of other coloring matter (Fast Red E) on paper chromatogram, while two samples of Food Red No. 3 (erythrosine) were rejected because 1% solutions of them showed too low pH values (confer Table 2). Two samples of Food Red No. 5 Aluminum Lakes were condemned by the presence of subsidiary coloring matters on paper chromatogram.

(Received May 31, 1975)

1. 検査方法

重金属試験法, 塩化物試験法, 硫酸塩試験法につい

ては既報¹⁻³⁾の簡便法を使用した。

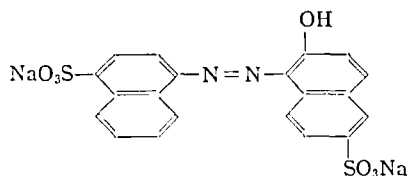
* 大阪空港薬事監視員事務所

Table 1. Numbers of coal-tar dyes tested in each month

Classification	1974										1975			
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	Total	
Food Red No. 2 (Amaranth)	5	6	7	12	12	5	9	3	1	1	1	2	64	
No. 3 (Erythrosine)	2	2	—	1	3	1	—	1	3	3	1	1	18	
No. 102 (New Coccine)	22	7	16	—	—	—	5	3	18	6	5	—	82	
No. 104 (Phloxine)	—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	3	
No. 105 (Rose Bengale)	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	
No. 106 (Acid Red)	2	2	—	2	—	1	1	1	—	—	—	1	10	
Food Yellow No. 4 (Tartrazine)	10	13	15	14	21	1	1	7	31	12	15	5	145	
No. 5 (Sunset Yellow FCF)	9	12	10	4	1	—	4	4	8	5	6	—	63	
Food Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF)	2	2	3	1	2	—	1	—	1	1	2	1	16	
No. 2 (Indigo Carmine)	1	1	—	1	—	—	—	—	2	1	1	—	7	
Total	53	46	52	37	40	8	21	19	64	29	31	10	410	

2. 検査成績

昭和 49 年度は食用タール色素は 10 種類、410 件の規格試験を実施した。前年度⁴⁾と色素の種類、ロットサイズは変わらないにもかかわらず件数は 316 件、43.5%の減少を示した。種類別および月別の内訳を示すと Table 1 の通りである。前年度多く使用されていた食用赤色 102 号および食用黄色 5 号の件数が半分以下に減ったのが特徴であって、49年度は件数では食用黄色 4 号の 145 件が最高であって、2 位は食用赤色 102 号の 82 件であった。各色素とも検体数が軒並み減少しているなかで、食用赤色 2 号のみが前年度の 33 件から 64 件へと 2 倍近い伸びを示しているのが注目される。不適と判定されたものは食用赤色 2 号が他の色素の項で 15 件、同赤色 3 号が液性の項で 2 件であった。食用赤色 2 号の不適と判定されたものについて附随色素を追跡した結果ファストレッド E であることを確認した。



Fast Red E (Acid red 12) C.I. 16054

恐らく合成の原料である酸の不純物として存在した 2-ナフトール-6-スルホン酸に由来するものであると思われる。

食用赤色 3 号 18 検体の液性の測定値は Table 2 に示す通りである。なお、赤色 3 号の液性については昭

Table 2. pH values of food red No. 3 (Erythrosine)

No.	Month	Manufacturer	pH	Judgement
1	April 1974	A	7.20	pass
2	" "	A	7.20	pass
3	May	"	7.15	pass
4	" "	A	7.15	pass
5	July	"	7.45	pass
6	August	"	7.60	pass
7	" "	A	7.60	pass
8	" "	A	6.60	pass
9	September	"	9.69	pass
10	November	"	7.59	pass
11	December	"	6.30	rejected
12	" "	A	7.20	pass
13	" "	A	7.20	pass
14	January 1975	A	7.10	pass
15	" "	A	7.45	pass
16	" "	A	7.10	pass
17	February	"	6.40	rejected
18	March	"	6.80	pass

Note. pH of Food Red No. 3 solution (1→100) must be between 6.5 and 10 by use of glass electrode.

和 39 年に 6~9 から 6.5~10 に変更され、今日に到っているものである。

一方、タール色素のアルミニウムレーキは 5 種類、37 件について試験した。(Table 3 参照)。前年度は

Table 3. Numbers of coal-tar dye aluminum lakes tested in each month

Classification	1974												1975			Total
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
Food Red No. 3 Aluminum Lake	—	1	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
Food Yellow No. 4 Aluminum Lake	—	8	—	4	3	4	—	—	3	—	—	—	—	—	—	22
Food Yellow No. 5 Aluminum Lake	—	—	—	3	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	5
Food Blue No. 1 Aluminum Lake	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
Food Blue No. 2 Aluminum Lake	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
Total	0	12	3	10	3	4	0	0	5	0	0	0	0	0	0	37

6 種類 89 件（49 年度は食用赤色 2 号アルミニウムレーキなし）であったのに対して検体数は激減している。検体の 60% 近くが食用黄色 4 号アルミニウムレーキであった。食用黄色 5 号アルミニウムレーキ 2 件から附随色素が検出され、不合格となった。

3. 考察

タール色素では前年度より検体数は減少しているにもかかわらず不合格件数は 3 件から 17 件へと 6 倍近い増加を示した。しかもその内訳はこれまで全く不合格の認められなかった食用赤色 2 号の附随色素の項と食用赤色 5 号の液性の項であって、これはいずれも精製の不十分によるものと思われ、今後共色素製品の品質について厳重に監視することが必要であることを示すも

のである。

タール色素アルミニウムレーキでは食用黄色 5 号アルミニウムレーキについて前年度は 19 検体中 10 検体から附随色素が検出されたが、本年度も 5 件中 2 件から検出され相変わらず改善されていないことが知られた。

文 献

- 1) 外海泰秀, 野村幸雄: 衛生化学, 18, 363 (1972)
- 2) 野村幸雄, 外海泰秀, 吉田由美子, 栗山加代: 衛生試験, 88, 134 (1970)
- 3) 外海泰秀, 野村幸雄: 衛生試験, 88, 139 (1970)
- 4) 慶田雅洋, 伊賀宗一郎, 中村恵三, 田中清子, 外海泰秀, 金田吉男: 衛生試験, 92, 105 (1974)

食用黄色 5 号（サンセットエロー FCF）の附随色素について

慶田雅洋・金田吉男・伊藤啓志男・外海泰秀

Subsidiary Dyes in Food Yellow No. 5 (Sunset Yellow FCF)

Masahiro IWAIDA, Yoshio KANEDA, Yoshio ITO and Yasuhide TONOGAI

In the Japanese Standards of Food Additives (3rd Ed.), it is prescribed that subsidiary dyes in coal-tar dyes are to be inspected by the presence of sub-spot on a paper chromatogram. It was tried in this report to express the content of subsidiary dyes by percentage in the sample, taking up sunset yellow FCF as the object. Official First Action of A.O.A.C. was applied for the determination of lower sulfonated dye (orange II), while a partially modified technique of A.O.A.C. was adopted for the determination of higher sulfonated dyes (R salt and G salt isomers). About 0.4% of lower sulfonated dye and 1.2% of higher sulfonated dyes were present in three samples of commercial preparation of sunset yellow FCF to be used as food additive.

(Received May 31, 1975)

昭和 48 年度と昭和 49 年度にかけて大阪支所食品部で検査した食用黄色 5 号, 食用黄色 5 号アルミニウムレーキ 322 件中 12 件が“他の色素”の項で附随色素が検出され不合格と判定された。FDA ではサンセット

エロー FCF（ジスルホン化物）の附随色素は 5.0% 以下と規定されている¹⁾が、食品添加物公定書ではペーパークロマトグラフィーにより色素の 0.1% 溶液（色素レーキについては色素分として 0.1% 溶液）につい

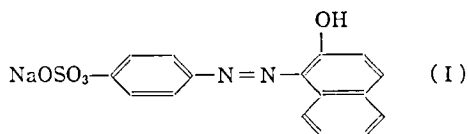
て肉眼で一つのはん点以外にはん点を認めてはならないと記されており、一応これによって 3.0% 以上の副色素の存在を検出する目安となっているが、肉眼による判定は個人差があり、客観性にかけているきらいがある。従って A.O.A.C. 公定法²⁾により附随色素 (モノおよびトリスルホン化物) の定量を試みた結果についてここに報告する。

使用機器

島津製作所製 Multiconvertible Spectrophotometer Double-40 DF および Spectronic 20

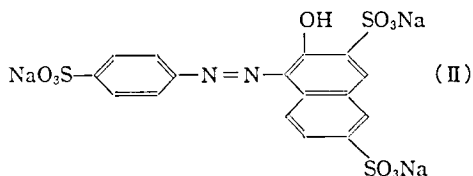
附随色素の標準品

1. モノスルホン化物オレンジ II [1-(p-スルホフェニルアゾ)-2-ナフトール] C.I. 15510, 関東化学製

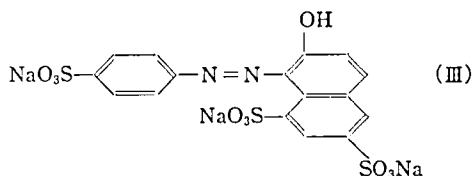


2. トリスルホン化物, R 酸塩誘導体 [1-(p-スルホフェニルアゾ)-2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸塩]: スルファニル酸 17.3 g および無水炭酸ナトリウム 5.5 g を水 100 ml に溶かし, 塩酸 25 ml を加えて 10° 以下に冷却し, これに 20% 亜硝酸ナトリウムを徐々に加えた後, スルファミン酸を加えて過剰の亜硝酸を除去してジアゾ化スルファニル酸溶液を調製した

R 塩 34.8 g, 水酸化ナトリウム 10 g および無水炭酸ナトリウム 10 g を水 100 ml に溶かし, 氷冷しながら上記のジアゾ化スルファニル酸溶液を加え, 析出した結晶を濾別し, ホエタノール (1+1) で再結晶し, 135° で乾燥して II を調製した。



3. トリスルホン化物, G 塩誘導体 [1-(p-スルホフェニルアゾ)-2-ナフトール-6,8-ジスルホン酸塩]: G 酸 34.8 g を用いて II と同様に操作して III を調製した。



II および III は, 0.1N 三塩化タンをもちいて滴

定して純度検定したのち使用した。

実験方法

モノスルホン化物の定量は A.O.A.C. 公定法²⁾ の記載にしたがって, またトリスルホン化物についてはそれを改良しておこなった。

結果並びに考察

1. モノスルホン化物定量法の検討

市販食用黄色 5 号 3 検体についてモノスルホン化合物オレンジ II の混在について調べた結果を Table 1 に示した。添加回収率は 90±5% であって, A.O.A.C. 法をそのまま用いてもよいことが示された。

Table 1. Orange II (lower sulfonated dye) content of commercial sunset yellow FCF preparations

Sample	Orange II content (%)	Recovery* (%)	Permissible level
A	0.36	—	
B	0.36	90±5	3%
C	0.40	—	

* 0.4 mg of Orange II was added to 200 mg of sunset yellow FCF (mean value of three trials)

2. トリスルホン化物定量法の検討

トリスルホン化合物の分析のためには A.O.A.C. 法では厚さ 5 cm のセルを用いる分光光度法を用いているが, これを通常 1 cm のセルを使用するように改良を試みた。すなわち試料は A.O.A.C. 法と同量として (1+25) 塩酸溶液 100 ml としたのち, その 10 ml に対して原法では (1+25) 塩酸 40 ml を添加しているが, これを 10 ml に改めた。イソamilアルコールによる抽出はそのままとし, amilアルコール層の洗浄は (1+25) 塩酸 10 ml で 2 回行なうことにし, 最終液量を 50 ml の定容とすることによって原法の 1/2 に減少させた。これについて吸収スペクトルを測定したところ, Fig. 1 に示すように試料 A, B, C とも吸収極大における吸光度はほぼ 0.14 であり, 測定値として適当な値であった。

次に, この方法に対する食用黄色 5 号自体の妨害について国立衛生試験所標準品を用いて測定した結果は Table 2 に示す通りである。検液の波長 490 および 476 nm における吸光度はほぼ 0.001 であって, 主色素による妨害はないとみなしてよいと思われる。

ついでこの操作による化合物 II および III の抽出の効率を調べた結果を Table 3 に示す。

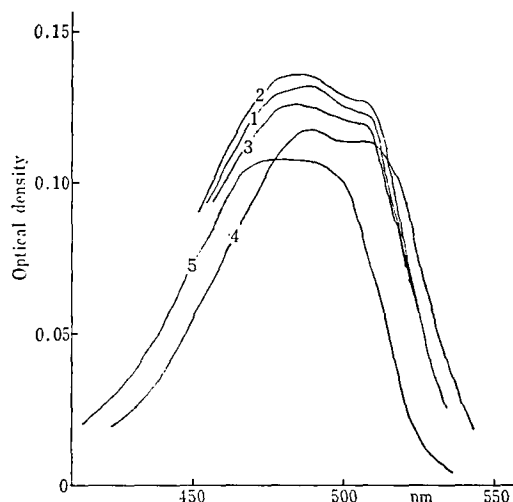


Fig. 1. Spectra of subsidiary dyes

- 1: Spectrum of test solution obtained from sample A.
- 2: Spectrum of test solution obtained from sample B.
- 3: Spectrum of test solution obtained from sample C.
- 4: Spectrum of 2 ppm of R-isomer in HCl (1+25).
- 5: Spectrum of 2 ppm of G-isomer in HCl (1+25).

Table 2. Disturbance of sunset yellow FCF on the Determination of higher sulfonated dyes

Optical densities of test solutions at the following wavelengths (nm)	
A ₄₉₀	A ₄₇₆
0.001±0.001	0.001±0.002

100 mg of sunset yellow FCF standard distributed by National Institute of Hygienic Sciences was used throughout the experiment (mean value of three trials)

抽出剤（塩酸）の量が A.O.A.C. 法に比較して少ないために、イソアミルアルコール層にかなりの水層がとけこみ、II および III の回収率は約 61 および 87% と低い値を得た。そこで (1+25) 塩酸で飽和したイソアミルアルコールを用いて行ったところ II および III について 90% 以上の回収率がえられた。したがって、(1+25) 塩酸飽和イソアミルアルコールを用いて操作すれば、日常作業には十分な定量精度がえられることがわかった。そこで試料 A, B, C についてこの操作を行ない、それぞれの吸収スペクトルをえがいたところ、

Table 3. Comparison of the extraction rate of compound II and III from isoamyl alcohol in the determination of higher sulfonated dyes

	Recovery (%)	
	Compound III (100 µg)	Compound II (100 µg)
isoamyl alcohol	86.7±0	61.2±5.1
HCl (1+25) saturated isoamyl alcohol	92.8±3.7	90.8±4.1

Note: Mean value of three trials

Table 4. Subsidiary dye contents in some commercial food dyes

Sample	Subsidiary dye (%)*		
	I	II+III	Total
A	0.36	1.20	1.51
B	0.36	1.25	1.61
C	0.40	1.16	1.56

* Mean value of three trials.

Note: I lower sulfonated dye; II and III higher sulfonated dye.

Fig. 1 に示したように、これら試料中のトリスルホン化合物は II および III の混合物であることが示された。従ってトリスルホン化合物の定量値は G および R 塩誘導体の混合物%として表示すべきできると考えた。その値は A, B, C とともに約 1.2% であった (Table 4 参照)。モノスルホン化合物を加えた附随色素の総量はいずれも約 1.5% であって、公定書の 3% 規格の以内に収まっていることが知られる。なお 3 検体ともペーパークロマトグラフィーでは附随色素のスポットを認めていないことを付記しておく。

結 論

食用黄色 5 号の附随色素の定量法として A.O.A.C. 公定法の改良法によりモノスルホンおよびトリスルホン化合物を定量し、その総量で示す方法を確認し、食用タール色素 3 検体に応用した。

文 献

- 1) Color Certification Regulation (1959)
- 2) Association of Official Analytical Chemists: "Official Methods of Analysis of A.O.A.C.," 12th ed., 34.077 and 34.078 (1975)

く形波ポーラログラフによる大気中のアクロレインの測定について

山手 昇・松村年郎

Determination of Acrolein in Ambient Air by the Use of Square Wave Polarography

Noboru YAMATE and Toshiro MATSUMURA

A method of determination for the square wave polarography of acrolein in ambient air were established. The analytical procedure is as follows.

The sample air is drawn for 120 min. at flow rate of 1 L per min. through a train of two bubblers, each containing 10 ml of ethylalcohol. Take to 15 ml of the sample solutions into a 50 ml volumetric flask, add 5 ml of 1 M lithium chloride, and make to mark with 0.1 N hydrochloric acid.

A portion of this solution is transferred to electrolytic cell and square wave polarogram from -0.7 V to -1.2 V vs. Hg pool are record.

(Received May 31, 1975)

アクロレインは石油精製、アクロレイン製造、化製場、ワニス製造、油脂加工工場などの排ガスおよび自動車燃料の不完全燃焼によって発生する。また、窒素酸化物と炭化水素の光化学反応によっても生成する。アクロレインは特有の刺激性のある物質で政令で特定有害物質および悪臭物質の一つに指定されている。

アクロレインの測定方法としては 4-ヘキシルレゾルシン法¹⁾が広く使用されているが、この方法を汚染大気中のアクロレインに応用した場合、4-ヘキシルレゾルシンなどの試薬を加えて得られる発色液がピンクになる現象がみられ、アクロレイン濃度が正しく測定されているか明らかでない。著者らはポーラログラフを用いるアクロレインの測定法について検討を加え、汚染大気中のアクロレインを精度よく測定できる方法を見出したので報告する。

実 験

1. 装置

使用した装置は柳本製 P8-S 型ポーラログラフで次のような条件で測定した。加電圧 2.0V、重畳く形波電圧 20 mV、増幅器感度 500、適下水銀電極の適下速度 3.84 sec/drop。

また、測定温度は 20°、溶存酸素除去には窒素を用いた。

2. 試薬

- (1) 吸収液：エチルアルコール (99.5% 以上)
- (2) 0.1N 塩酸
- (3) 1 M 塩化リチウム溶液：塩化リチウム 42.4 g を水に溶かして 1 l とする。

(4) アクロレイン標準溶液：十分乾燥、冷却した重量既知の注射筒 (1 ml) に精製アクロレイン 0.1 ml をとり、針の先にゴム栓をとりつけ秤量する。このアクロレインをエチルアルコール約 8 ml をいれた 10 ml のメスフラスコに移し、エチルアルコールを標線まで加え原液とする。注射筒を秤量して前後の重量差よりアクロレイン採取量を求める。原液の一定量を分取し、エチルアルコールを加えて 1 ml 中 50.06 μ g のアクロレインを含む溶液を調製し、アクロレイン標準溶液とする。この標準溶液 1 ml はアクロレイン 20 μ l (0°, 760 mmHg) に相当する。

3. アクロレインの採取方法

採取装置：採取装置としては Fig. 1 に示すような装置を構成する。吸引管としてはインピンジャー 2 個を直列につなぎ、各々に吸収液 10 ml を入れ、第 1 管目は氷水中で、第 2 管目はドライアイス-アセトン中で冷却しながら、毎分 1 l の流量で試料空気を 2 時間通じ

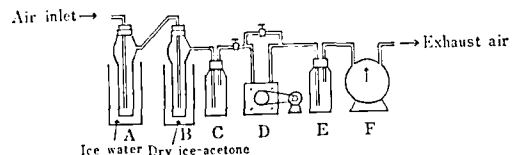


Fig. 1. Apparatus for collection of acrolein in ambient air

- A : bubbler
B : bubbler
C : buffer tank
D : air pump
E : buffer tank
F : gas meter

る。各吸収管には通気によって減量した量だけの吸収液を加えて分析用試料溶液とする。

4. 定量操作

第1および第2管内の分析用試料溶液を合して、その15 ml をメスフラスコ 50 ml にとり、これに1 M塩化リチウム 5 ml を加え、さらに0.1 N 塩酸を標線まで加える。ついでこの溶液の一部を電解セルに移し、20° の水浴中で5分間除酸素を行い、直ちに -0.7 V から -1.2 V の加電圧範囲のく形波ポーラログラムを

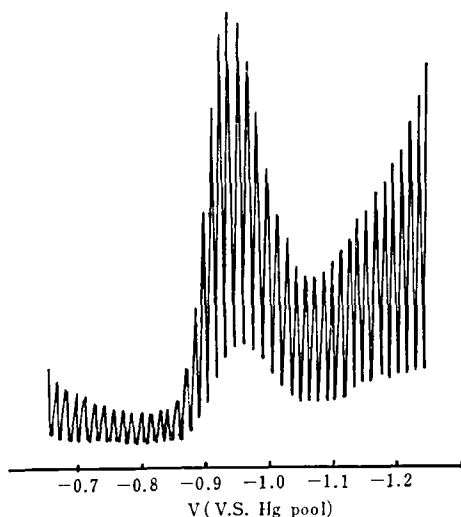


Fig. 2. Polarogram of acrolein with square wave polarograph

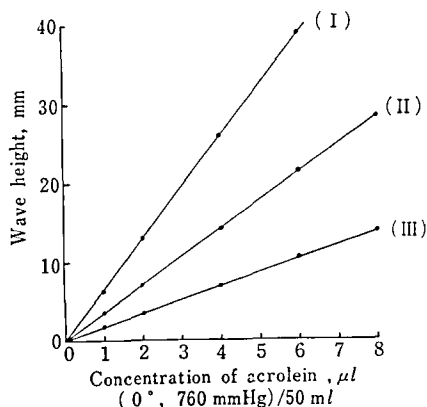


Fig. 3. Calibration curves of acrolein

sens (I)	500
(II)	200
(III)	100
square wave	20 mv
time constant	55
drop time	3.84 sec
water temperature	20°

記録し、-0.93 V (対水銀池) 付近の頂点電位の波高をはかり、検量線からアクロレインの体積を求める。

〔検量線の作成〕 アクロレイン標準溶液 0~1.0 ml を段階的にメスフラスコ 50 ml にとり、各々に吸収液を加えて15 ml とし、以下4.の定量操作によって操作し、アクロレインの体積と波高との関係線を作成する。Fig. 2 にポーラログラム、Fig. 3 に検量線を示す。

5. 計算

次の式によって試料空気中のアクロレイン濃度を算出する。

$$C = 1.33 \times \frac{v}{V} \times \frac{273 + t}{273}$$

ここで C : アクロレインの濃度 (ppm)

v : 検量線から求めたアクロレインの体積 (μl) (0°, 760 mm Hg)

V : 試料空気の採取量 (l)

t : 試料空気採取時の気温 (摂氏)

結果及び考察

1. 支持電解質の検討

支持電解質として Moshier²⁾ はリン酸リチウム緩衝液、松原ら³⁾ はコルゾッフの緩衝液、Kirillora ら⁴⁾ は塩酸溶液を使用している。本法ではアクロレインの吸収液としてエチルアルコールを用いるので、支持電解質はエチルアルコールを含ませる方向で検討した。この結果、支持電解質としては0.06 N 塩酸、0.1 M 塩化リチウム、30%エチルアルコール溶液が、アクロレインの再現性および検出感度の点で最適であった。

2. 支持電解質中のアクロレインの安定性

支持電解質中のアクロレインは20°において調製後、1時間までは安定であるが、2時間で10%、4時間で20%、7時間で40%分解する。したがって調製後は1時間以内に分析することが必要である。

3. アクロレインの捕集率の検討

アクロレインの捕集率は、本法の吸収管を冷却する操作では第1管目が20%、第2管目が80%であり、捕集は完全に行われていた。なお、吸収管を冷却しないと吸収管を3本直列につないだ場合でも捕集率は40%程度であった。

4. 共存ガスの検討

汚染大気中に含まれ、かつ妨害が考えられる二酸化イオウ、二酸化窒素、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、エチレンおよび1,3-ブタジエンについて影響を検討した。すなわち、200 l のマイラーバックにアクロレイン0.27 ppmおよび7種類の各0.5 ppmを添加した試料ガスを調製して、本法の操作によってアクロレ

Table 1. Determination of acrolein in polluted air by polarographic method and 4-hexylresorcinol method

Sampling point	Sampling date	Sampling hour	Acrolein, ppb	
			Polaro. method	4-Hexyl. method
Kasumigaseki in Tokyo	Aug. 14, 1974	9:30~11:30	5	—
	"	11:30~13:30	13	—
	"	13:30~15:30	5	—
	"	15:30~17:30	10	—
	Aug. 24, 1974	9:30~11:30	9	—
	"	11:30~13:30	4	—
	"	13:30~15:30	7	—
	"	15:30~17:30	9	—

—: Red color is formed

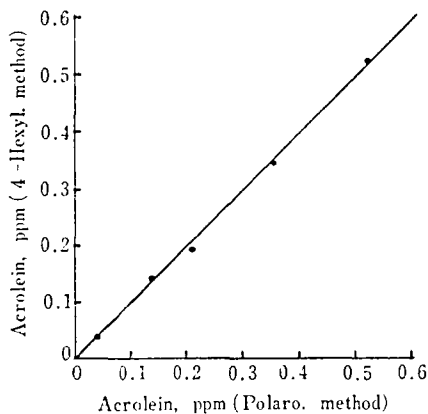


Fig. 4. Comparison of determination results obtained by polarographic method and 4-hexylresorcinol method for standard acrolein gas

インを測定した。その結果、添加したガスによる影響はみとめられなかった。

5. 本法と4-ヘキシルレゾルシン法との測定値の比較

(1) 調製した試料ガスについての結果

200lのマイラーバックに種々の濃度のアクロレインを含む試料ガスを調製して、本法と4-ヘキシルレゾルシン法を用いて同時測定を行った。結果はFig. 4に示すように両法による測定値はよく一致した。

(2) 汚染大気試料についての結果

Table 1は厚生省前の道路端において、本法と4-

ヘキシルレゾルシン法の測定結果である。アクロレインは本法では4ppbから13ppbの範囲で測定できたが、4-ヘキシルレゾルシン法では発色液が赤色を呈し比色ができなかった。4-ヘキシルレゾルシン法によるアクロレインの発色は本来は青色(極大吸収波長605nm)であるが、赤色を呈したことは他のガスによる妨害をうけたためと考えられる。

む す び

以上、ポーラログラフを用いた大気中のアクロレインの測定方法について報告した。本法は4-ヘキシルレゾルシン法に比して妨害ガスの影響が少なく、選択性のよい方法であり、とくに汚染大気中のアクロレインの測定には極めて有用な方法と考える。

おわりに、本研究に際し、ポーラログラフの使用に便宜を与えられた食品添加物部主任研究官の辰濃隆氏に謝意を表する。

文 献

- 1) 日本分析化学会関東支部編：公害分析指針大気編 3-b, (1973) 共立出版
- 2) R.W. Moshier: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **15**, 107 (1943)
- 3) 松原 功, 木下祝郎: *分析化学*, **9**, 147 (1960)
- 4) A.S. Kirillora, I.A. Korshunov: *Zhur. Anal. Khim.*, **6**, 257 (1951)

東京都内3カ所の国設自動車排出ガス常時測定所における 大気汚染測定結果の概要（1974年1月～12月）

山手 昇・松村年郎

Summary of Air Pollutants Levels at the National Autoexhaust Monitoring Station at Three Locations in Tokyo from January to December 1974

Noboru YAMATE and Toshiro MATSUMURA

This report presents summarized results of air pollutants levels at the National Autoexhaust Monitoring station at three locations (Kasumigaseki, Itabashi and Shinjuku) in Tokyo from January to December 1974.

The results were shown in Table 1 and Fig. 1～Fig. 9 respectively.

(Received May 31, 1975)

1962年ばい煙規制法（現在、大気汚染防止法）の制定に伴ない、大気汚染測定体制の確立が必要とされたので、厚生省においては自動車排気ガスを含めた大気汚染測定のための自動計測器の開発を手がけることとし、科学技術庁の特調費によりこれを行った。この開発の成果にもとづき当所においては東京都内の3カ所に大気汚染測定所を設置し、1964年1月から二酸化イオウ、浮遊粒子状物質、一酸化炭素、二酸化窒素、一酸化窒素の測定を実施している。この間、霞ヶ関測定所において1968年1月からホルムアルデヒド、1970年3月から炭化水素、1971年5月からオキシダント、大原町および板橋の測定所においては1971年10月から炭化水素の測定を始めた。これらの成果¹⁾は環境基準設定の基礎資料として活用され、また、自動車排出ガスによる汚染状況の把握ならびに自動車排出ガスの規制対策上の貴重な資料となっている。なお、これら3カ所の測定所は環境庁の発足に伴ない1972年4月から環境庁に移管されたが、測定業務は環境庁の依頼により当所で実施している。

本報は1974年1月から12月の測定結果の概要である。

測定方法

この調査は都市大気汚染、とくに自動車排出ガスによる汚染の実態把握を目的としているため、測定は交通量の多い地点に主眼をおいて、ビル街として霞ヶ関、繁華街として新宿、工場地帯として板橋を選定して、それぞれの歩道端に測定室を設置して1964年1月から測定を実施した。しかし、その後土地事情等のため新

宿および霞ヶ関の両測定所の設置場所は移動をみた。

1. 測定地点

(1) 霞ヶ関測定所 日比谷公園敷地内の祝田橋通りに面する歩道端に設置されている。対向は厚生省で交通量は1日約40,000台である。この測定所は1973年2月に対向の厚生省敷地内から移転したものである。

(2) 板橋測定所 板橋清掃事務所敷地内（東京都板橋区東坂下2-2）の中仙道（国道17号）に面する歩道端に設置されている。板橋工場地帯に位置しており、周辺には化学工場やばい煙発生施設が多数存在している。中仙道の交通量は1日約60,000台である。

(3) 新宿測定所 新宿御苑内（東京都新宿区内藤町11）の環状4号線に面する正門横の塀際に設置されており72年7月から測定を行っている。

(4) 大原町測定所 1965年9月に大原町交差点の隅の敷地内（東京都杉並区方南町1丁目）に設置され測定を開始したが土地事情のため1972年4月をもって廃止し、上記の新宿御苑に移した。なお、この測定室は甲州街道と環状7号線の交差点に面しており、1日の交通量は約140,000台であった。

2. 自動計測器の種類

各測定所には次に示す自動計測器が収納されている。

(1) 二酸化イオウ：溶液導電率法、測定目盛範囲0～0.5 ppm

(2) 浮遊粒子状物質：光散乱方式、1時間当りの1カウントは空気1m³中1μgの重量に相当

(3) 一酸化炭素：赤外線吸収方式、測定目盛範囲0～50 ppm

(4) 窒素酸化物：吸光光度測定方式（ザルツマン試

薬), 一酸化窒素と二酸化窒素の分別測定, 測定日盛範囲 0~0.5 ppm, 0~1 ppm の2段切換(ザルツマン係数 0.5)

(5) ホルムアルデヒド: 吸光光度測定方式(アセチルアセトン試薬), 測定日盛範囲 0~0.2 ppm, 霞ヶ関測定所のみ設置

(6) 炭化水素: 水素炎イオン化方式, 全炭化水素と不飽和炭化水素の分別測定, 測定日盛範囲 0~10 ppm (プロパン当量) 霞ヶ関測定所は 1970 年 3 月, 大原町および板橋測定所は 1971 年 10 月から測定開始.

(7) オキシダント: 吸光光度測定方式(中性ヨウ化カリウム試薬), 測定日盛範囲 0~0.5 ppm, 1971 年

Table 1. Summary of air pollutants levels in Tokyo (Jan.—Dec., 1974)

Pollutants	Station	Number of hours	Number of days	Hour value		Hourly-average		Day-average		Month-average		average
				min.	max.	min.	max.	min.	max.	min.	max.	
Sulfur dioxide (ppm)	Kasumigaseki	8,344	348	0.01	0.12	0.011	0.044	0.010	0.055	0.020	0.029	0.023
	Itabashi	8,296	346	0.01	0.13	0.010	0.058	0.010	0.074	0.018	0.037	0.028
	Shinjuku	8,709	363	0.01	0.11	0.011	0.034	0.010	0.050	0.016	0.025	0.021
	Three stations	25,349	1,057	0.01	0.13	0.010	0.058	0.010	0.074	0.016	0.037	0.024
Dust ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Kasumigaseki	8,324	347	9	628	44	171	17	294	62	146	98
	Itabashi	8,086	337	6	555	33	149	13	218	54	107	81
	Shinjuku	7,886	329	12	1,107	51	166	20	300	65	138	104
	Three stations	24,296	1,013	6	1,107	33	171	13	300	54	146	94
Carbon monoxide (ppm)	Kasumigaseki	8,537	356	1	17	1.1	7.4	1.0	7.5	2.0	3.8	2.9
	Itabashi	6,802	284	1	20	1.7	7.9	1.5	9.3	2.9	5.1	3.5
	Shinjuku	8,343	348	1	13	1.1	4.5	1.0	7.9	2.0	3.7	2.6
	Three stations	23,682	988	1	20	1.1	7.9	1.0	9.3	2.0	5.1	3.0
Nitric oxide ¹⁾ (ppm)	Kasumigaseki	8,163	341	0.01	0.35	<0.019	0.108	0.012	0.173	0.043	0.082	0.060
	Itabashi	8,270	345	0.01	0.35	<0.036	0.200	0.020	0.225	0.050	0.136	0.082
	Shinjuku	8,222	343	0.01	0.35	<0.015	0.075	0.010	0.148	0.030	0.055	0.041
	Three stations	24,655	1,029	0.01	0.35	<0.015	0.200	0.010	0.225	0.030	0.136	0.061
Nitrogen dioxide ¹⁾ (ppm)	Kasumigaseki	8,192	342	0.01	0.15	0.018	0.057	0.018	0.068	0.028	0.042	0.037
	Itabashi	8,417	351	0.01	0.28	0.022	0.071	0.018	0.088	0.034	0.058	0.047
	Shinjuku	8,226	343	0.01	0.18	0.014	0.053	0.009	0.071	0.027	0.040	0.034
	Three stations	24,835	1,036	0.01	0.28	0.014	0.071	0.009	0.088	0.027	0.058	0.039
Formaldehyde (ppm)	Kasumigaseki	7,802	331	0.001	0.031	0.0021	0.0106	0.001	0.0142	0.0045	0.0075	0.0057
Oxidants ²⁾ (ppm)	Kasumigaseki	8,352	349	0.001	0.174	0.01	0.062	0.01	0.062	0.019	0.039	0.029
Total hydrocarbon ³⁾ (ppm)	Kasumigaseki	7,883	329	0.4	2.9	0.69	1.14	0.55	1.44	0.83	1.08	0.92
	Itabashi	7,741	323	0.6	5.4	1.03	1.79	0.82	2.40	1.12	1.55	1.31
	Shinjuku	7,611	318	0.4	4.2	0.68	1.29	0.48	1.81	0.78	1.20	0.98
	Three stations	23,235	970	0.4	5.2	0.68	1.79	0.48	2.40	0.78	1.55	1.07
Unsaturated hydrocarbon ³⁾ (ppm)	Kasumigaseki	7,188	300	<0.05	1.2	0.10	0.26	0.05	0.45	0.12	0.21	0.17
	Itabashi	6,615	276	<0.05	1.4	0.09	0.31	0.08	0.43	0.14	0.20	0.17
	Shinjuku	4,764	199	<0.05	0.9	0.06	0.19	0.05	0.32	0.10	0.14	0.12
	Three stations	18,567	775	<0.05	1.4	0.06	0.31	0.05	0.45	0.10	0.21	0.15
Traffic volume (cars/hour)	Kasumigaseki	7,960	332	40	3,280	64	2,136	488	1,584	968	1,128	1,074

1) Saltzman factor : 0.72

2) no corrected value for nitrogen oxides

3) as propan

5月に霞ヶ関測定所後方の厚生省旧館6階屋上に設置。1973年2月に日比谷公園内に移転し、大気取入口は日比谷公園寄車道端から公園内8mの地上2mの高さに設置。

(8) 交通量：受圧ゴムホースによるカウンタ方式、霞ヶ関のみ設置

測定結果及び考察

測定成績は Table 1 に1974年1月から12月までの汚染物質と交通量の全測定数（1時間単位）と1時間値、時刻別平均値、日別平均値および月別平均値の各々の最低と最高ならびに年平均値を示した。

各汚染物質の濃度は前年（1973年）に比して全般的に霞ヶ関、板橋、新宿の3測定所とも減少傾向を示している。

1. 二酸化イオウ

二酸化イオウの1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.023 ppm、板橋測定所 0.028 ppm、新宿測定所 0.021 ppm であり、二酸化イオウ濃度は、前年に比して3測定所とも引き続き減少傾向を示している（Fig. 1）。

二酸化イオウの測定値を環境基準の条件、①1時間値の1日平均値が0.04 ppm 以下であること、②1時間値が0.1 ppm 以下であること、にそれぞれ対比すると①の条件を超えた日数と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所16日、4.6%、板橋測定所46日、13.3%、新宿測定所6日、1.7%、②の条件を超えた時間と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所18、0.2%、板橋測定所45、0.5%、新宿測定所4、0.05% であり、3測定所とも環境基準に不適合であった。

2. 浮遊粒子状物質

浮遊粒子状物質の1時間値の年平均値（ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）は、霞ヶ関測定所 98 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、板橋測定所 81 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、新宿測定所 104 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、浮遊粒子状物質濃度は、

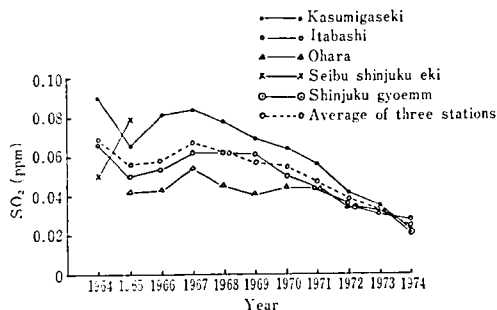


Fig. 1. Yearly variation of sulfur dioxide concentration in Tokyo (1964~1974)

前年に比して3測定所ともやや減少傾向を示している（Fig. 2）。

浮遊粒子状物質の測定値を環境基準の条件、①1時間値の1日平均値が100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であること、②1時間値が200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であること、にそれぞれ対比すると①の条件を超えた日数およびその頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所134日、38.6%、板橋測定所92日、27.3%、新宿測定所135日、41.0%、②の条件を超えた時間数と頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所804、9.7%、板橋測定所433、5.4%、新宿測定所835、10.6%であり、3測定所とも環境基準に不適合であった。

3. 一酸化炭素

一酸化炭素の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 2.9 ppm、板橋測定所 3.5 ppm、新宿測定所 2.6 ppm であり、一酸化炭素の濃度は、前年に比して霞ヶ関、

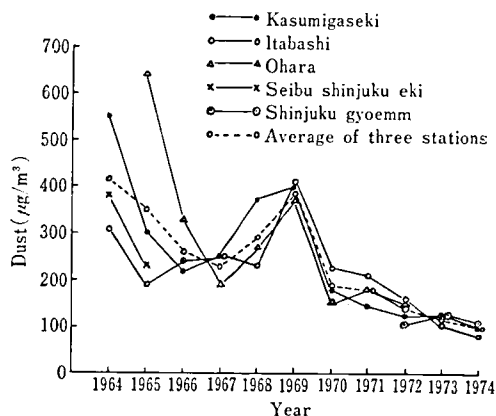


Fig. 2. Yearly variation of dust concentration in Tokyo (1964~1974)

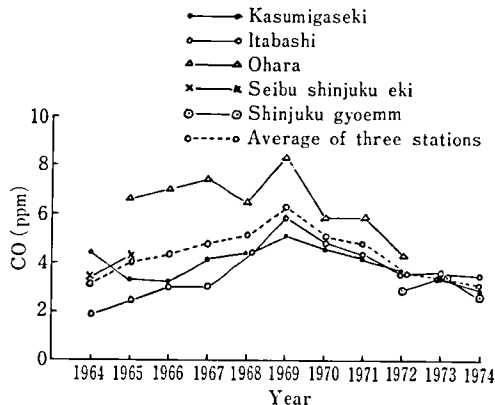


Fig. 3. Yearly variation of carbon monoxide concentration in Tokyo (1964~1974)

新宿の2測定所は減少、板橋測定所は横ばい傾向を示している (Fig. 3)。

一酸化炭素の測定値を環境基準の条件、①1時間値の1日平均値が10 ppm以下であること、②1時間値の8時間平均値が20 ppm以下であること、にそれぞれ対比すると3測定所とも①の条件を超えた日数および②の条件を超えた回数はいずれも0であり、3測定所とも環境基準に適合している。

4. 窒素酸化物 (一酸化窒素と二酸化窒素)

窒素酸化物は、人体影響ならびに光化学スモッグ生成の原因物質として注目されている汚染物質である。

測定方法としては、ザルツマン試薬を用いる吸光光度法が広く使用されている。二酸化窒素 (NO_2) の亜硝酸イオン (NO_2^-) への転換係数、すなわちザルツマン係数としては、1964年から1973年までの測定値には0.5を、1974年からの測定値には環境基準と同じ0.72を用いている。

一酸化窒素 (NO) の1時間値の年平均値は、霞ヶ

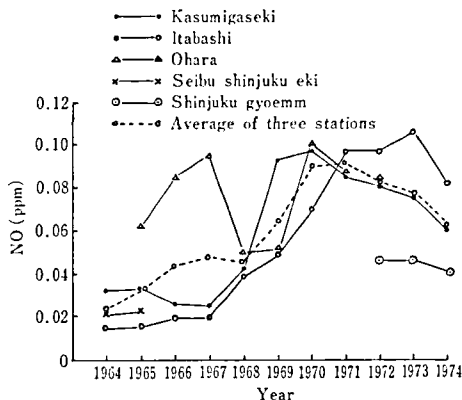


Fig. 4. Yearly variation of nitric oxide concentration in Tokyo (1964~1974)

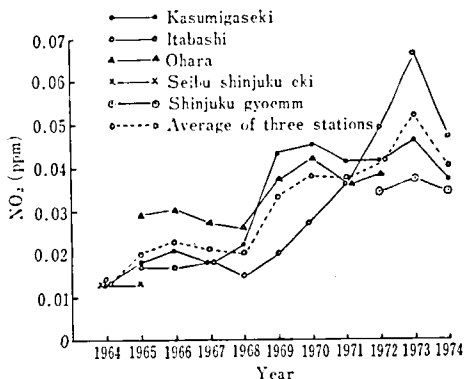


Fig. 5. Yearly variation of nitrogen dioxide concentration in Tokyo (1964~1974)

関測定所 0.06 ppm、板橋測定所 0.082 ppm、新宿測定所 0.041 ppm、また、二酸化窒素 (NO_2) の1時間値の年平均値は、霞ヶ関測定所 0.037 ppm、板橋測定所 0.047 ppm、新宿測定所 0.034 ppm であり、一酸化窒素および二酸化窒素の各濃度は、前年に比して3測定所とも減少傾向を示している (Fig. 4, Fig. 5)。

二酸化窒素の測定値を環境基準の条件“1時間値の1日平均値が0.02 ppm以下であること”に対比すると、この基準値を超えた年間の日数とその頻度は、それぞれ霞ヶ関測定所 339日、99.1%、板橋測定所 349日、99.4%、新宿測定所 326日、95.0% であり、3測定所とも環境基準に不適合であった。

5. 炭化水素

炭化水素は光化学オキシダント生成の原因物質であるが、特に不飽和炭化水素は、光化学オキシダント生成能が高い点で注目されている。

年平均値 (プロパン当量) は、霞ヶ関測定所では、全炭化水素 0.92 ppm、不飽和炭化水素 0.17 ppm、板橋測定所は、全炭化水素 1.31 ppm、不飽和炭化水素 0.17 ppm、新宿測定所は、全炭化水素 0.98 ppm、不飽和炭化水素 0.12 ppm であり、前年に比して3測定所ともやや減少傾向を示している (Fig. 6, Fig. 7)。

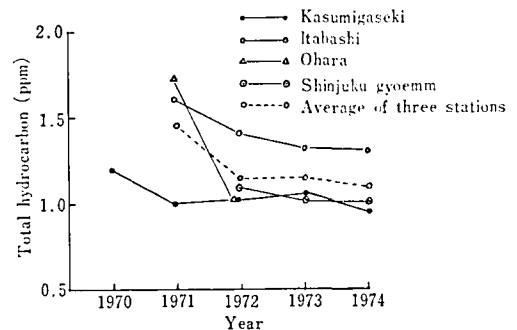


Fig. 6. Yearly variation of total hydrocarbon concentration in Tokyo (1970~1974)

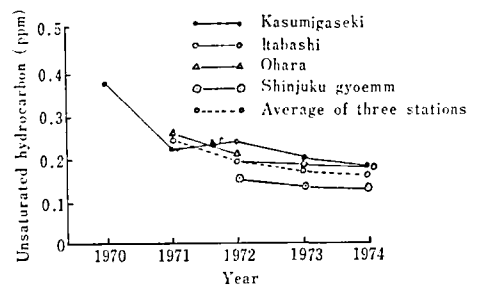


Fig. 7. Yearly variation of unsaturated hydrocarbon concentration in Tokyo (1970~1974)

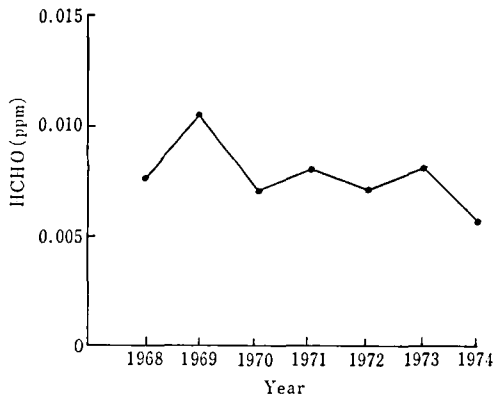


Fig. 8. Yearly variation of formaldehyde concentration at Kasumigaseki in Tokyo (1968~1974)

6. ホルムアルデヒド

自動車用燃料の不完全燃焼，潤滑油の酸化分解，大気汚染物質の光化学反応によって生成する汚染物質である。

ホルムアルデヒドの霞ヶ関測定所の1時間値の年平均値は，0.0057 ppm であり前年に比して減少傾向を示している (Fig. 8)。

7. オキシダント

光化学反応によって生成する酸化性物質の総称で，その主要成分はオゾンといわれている。霞ヶ関測定所のオキシダント濃度の年平均値は 0.029 ppm であり，前年に比して減少傾向を示している (Fig. 9)。なお，オキシダント測定値について，一酸化窒素および二酸化窒素の補正は行っていない。

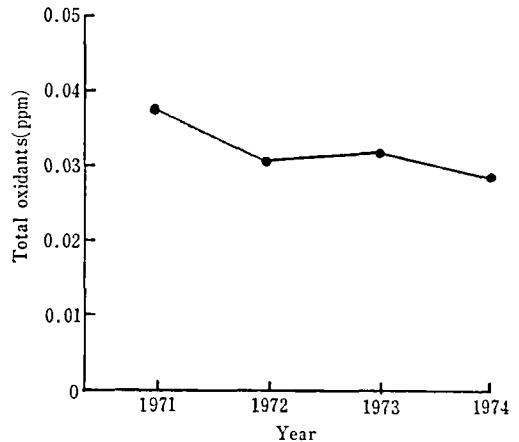


Fig. 9. Yearly variation of total oxidants concentration at Kasumigaseki in Tokyo (1971~1974)

8. 交通量

霞ヶ関測定所の年平均交通量（台/時）は，1,074台であり，前年に比して若干減少傾向を示している。

また，板橋測定所の交通量は，警視庁において1970年から毎年1回24時間調査を行っているが，同調査によると1974年における平均交通量（台/時）は，2,184台であり，前年に比して若干増加傾向を示している。

文 献

- 1) 国立衛生試験所，厚生省環境衛生局公害部：東京都内3地点の大気汚染測定網測定結果の概要，(1965)，(1966)，(1967)，(1968)，(1969)，(1970)，(1971)
- 2) 国立衛生試験所，環境庁大気保全局自動車公害課：東京都内3カ所の大気汚染測定網測定結果の概要，(1972)，(1973)，(1974)

輸入肉由来サルモネラ菌型—補遺—

河西 勉・鈴木 昭・小沼博隆

Serotypes of *Salmonella* Isolated from Imported Meats—Supplement—Tsutomu KAWANISHI, Akira SUZUKI
and Hirotaka KONUMA

In this paper, the results of serological examination of *salmonella* isolated from about 30,000 samples of imported frozen meats and eggs at the import examination during the 1965-1973 are summarized.

A total number of 16,688 isolates of *salmonella* were isolated from these samples. The isolates were serologically classified into 18 different groups by O-antisera and were determined to 93 different serotypes. In O-group distribution of the isolates, the rate of strains belonging to A-E group were 74 percent and the rate of that belonging to further group were 26 percent. It was shown that the results of this rate were differ from the results examined with originated domestic meat.

Among the serotypes of *salmonella* determined, the rare serotypes of *salmonella* occurring in only the imported meat, as compared with serotypes of *salmonella* of domestic meats were as follows; in A-E group, *Salmonella arechavaleta*, *S. preston*, *S. amersfoort*, *S. mission*, *S. belem*, *S. alagbon*, *S. glostrup*, *S. israel*, and *S. onireke*, and in further group, *S. bahati*, *S. wichita*, *S. carrau*, *S. baguida*, *S. langenhorn*, *S. uphill*, *S. fremantle*, *S. shikmonah*, *S. maricopa*, and *S. adelaide*.

(Received May 31, 1975)

ま え が き

わが国で検出されるサルモネラは 10 数年まえに比べると検出率の上昇などとともに菌型が変遷し、現在では非常に多くの菌型が報告されている¹⁻⁵⁾。しかもその菌型の多様化は国際的な規模で交錯しあっていると思われる⁶⁾。これらの要因の一つとして輸入の家畜の飼料、食肉および卵などが挙げられている。

すでにわれわれは数回にわたり輸入冷凍肉 および冷凍卵のサルモネラ汚染の実態について報告してきた^{8,9,10,13)}。その間、分離株の菌型の決定されたものが 80 菌型であったが、これらの報告の事点で同定のできなかった菌株や、その後に分離した菌株について菌型決定をおこなったところ、従来までに報告しなかった新しい菌型が検出されたので追加するとともに、1965 年～1973 年に輸入肉および卵などから検出したサルモネラの菌型を中心にその概略を報告する。

実験材料および方法

供試株：1965 年～1973 年の輸入検査において冷凍肉などから分離し、すでに報告した事点で未同定株として報告してきた 69 株と 1973 年に分離した菌株である。

同定法：既報⁸⁾に示す方法による。特に今回の未同

定株については国立予防衛生研究所坂崎利一博士の御援助によるものである。

結果および考察

1) 未同定 69 株の菌型について

既報において未同定株として報告してきた 69 株の菌型とその由来および分離年次については Table 1 に示す。

Table 1 に示すように、69 株中の 28 株は従来までに著者が報告してきた以外の新しい菌型で 6 群 8 菌型に型別された。すなわち、*Salmonella preston*, *S. london*, *S. wichita*, *S. bahati*, *S. carrau*, *S. sundsvall*, *S. baguida*, *S. houten* である。これ以外の 18 株は鞭毛抗原の 1 相性のもの、および非鞭毛性のもので Kauffmann-white Scheme¹³⁾ に同定されないサルモネラであった。上記 8 菌型の由来は、*S. bahati*, *S. carrau* はアルゼンチン由来馬肉、*S. wichita*, *S. carrau*, *S. sundsvall*, *S. baguida* はブラジル由来馬肉、*S. preston* はアメリカ由来鶏肉、*S. london* は中国由来鶏肉、*S. houten* はオーストラリア由来カンガルー肉であった。このうち *S. houten* は亜属 IV に属するサルモネラである。また、これら菌型の分離年次は、*S. carrau*, *S. houten* は 1965 年および 1966 年に、*S. bahati*, *S. sundsvall* は 1968 年および 1969 年

Table 1. *Salmonella* serotypes of newly determined 69 strains and their isolated years and origins

Serotypes (antigen formula)	No. of strains	Years	Origins
<i>S. preston</i> (1, 4, 12:z:l, w)	1	1971	U.S.A
<i>S. london</i> (3, 10:1, v:1, 6)	1	1971	P.R. China
<i>S. wichita</i> (1, 13, 23:d:—)	1	1970	Brazil
<i>S. bahati</i> (13, 22:b:e, n, z ₁₅)	1	1968	Argentina
<i>S. carrau</i> (6, 14, 24:y:1, 7)	2	1965	Argentina, Brazil
<i>S. sundsvall</i> (1, 6, 14, 25:z:e, n, x)	2	1969	Brazil
<i>S. baguida</i> (21:z ₄ , z ₂₃ :—)	1	1970	Brazil
<i>S. houten</i> (43:z ₄ , z ₂₃ :—)	1	1966	Australia
<i>Salmonella</i> (4, 12:—:—)	1	1970	Brazil
<i>Salmonella</i> (6, 7, g, p, t:—)	3	1968	Argentina, Australia
<i>Salmonella</i> (9, 12:—:1, 5)	3	1969	Argentina
<i>Salmonella</i> (3, 10:r:—)	7	1969	Argentina, Brazil
<i>Salmonella</i> (1, 3, 19:—:1, 5)	4	1965	Australia
<i>S. monteideo</i>	9	1970-71	Brazil, Mexico, P.R. China
<i>S. oranienburg</i>	1	1970	Argentina
<i>S. thompson</i>	13	1970-72	Mexico, USSR, USA, P.R. China
<i>S. potsdam</i>	4	1971-72	P.R. China
<i>S. newport</i>	2	1970	Argentina, USSR
<i>S. panama</i>	1	1968	Argentina
<i>S. anatum</i>	1	1971	Argentina
<i>S. give</i>	1	1970	Mexico
<i>S. rubislaw</i>	2	1971	Argentina
<i>S. poona</i>	1	1970	Brazil
<i>S. welikade</i>	4	1971	Argentina
<i>S. langenhorn</i>	1	1965	Australia
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1965	Australia
Total	69		

に, *S. baguida*, *S. wichita*, *S. london*, *S. preston* は1970年以降に, それぞれ分離されたものである。

さらに, 69株中の41株はすでに報告した菌型ですでに高率に検出されているものであった⁸⁻¹⁰⁾。そのうち1株はアリゾナ属と同定したが抗原分析の結果 *Citrobacter freundii* とあらためて同定された。

これら8菌型のわが国での検出状況を文献などで調査してみると *S. sundsvall*, *S. london*, *S. houten* などは1~2例報告されているが^{1,3,4)}、その他の *S. carrau*, *S. preston*, *S. wichita*, *S. bahati*, *S. baguida* などは全くわが国での報告はみあたらない。特に *S. baguida* は1967年以前の Kauffmann-white scheme にも記載されていない菌型で世界的に分離頻度の低い稀れな菌型¹⁶⁾である。しかしこのように検出頻度の低い菌型であるとはいえ, 1965年以降の輸入検体から分離されたことは, すでにこれら菌型がわが国への侵入の兆のあ

ることを示唆しているものと思われる。

2) 1965年~1973年に分離した輸入肉由来サルモネラの菌型の概要について

1965年~1973年に約30,000検体の輸入冷凍肉および冷凍卵などについてサルモネラ検査を実施し, その間, 数回にわたりサルモネラ汚染実態と同時に検出された菌型について報告してきたが⁸⁻¹⁰⁾、今回, 1973年までの9年間に分離した16,688株の菌型のパターンと血清学的からみた抗原の分布傾向をまとめてみた。その結果を Table 2, 3 に示す。

Table 2 に示すように分離株はO血清による群別(O群別)では18群に, また菌型として93型に型別できた。各O群別のうち頻度の高いものをあげるとE群(35%), L群(18.8%), B群(17.5%), C₁群(11.6%), C₂+C₃群(9.3%)で, これら5つのO群別で分離株の約90%を占めていた。なおA群に型別される菌株は

Table 2. Serological O-group and serotypes of *salmonella* 16688 strains isolated from imported meats (1965~1973)

O-group	No. of strains	%	No. of serotype	Serotypes
B	2,921	17.5	18	<i>S. arechavaleta</i> , <i>S. azteca</i> , <i>S. brandenburg</i> , <i>S. bredeney</i> , <i>S. californica</i> , <i>S. chester</i> , <i>S. derby</i> , <i>S. heidelberg</i> , <i>S. java</i> , <i>S. kiambu</i> , <i>S. paratyphi-B</i> , <i>S. preston</i> , <i>S. san-diego</i> , <i>S. saint-paul</i> , <i>S. schwarzengrund</i> , <i>S. shubra</i> , <i>S. stanley</i> , <i>S. typhimurium</i>
C ₁	1,937	11.6	17	<i>S. amersfoort</i> , <i>S. bareilly</i> , <i>S. braenderup</i> , <i>S. concord</i> , <i>S. edinburg</i> , <i>S. infantis</i> , <i>S. irumu</i> , <i>S. livingstone</i> , <i>S. lomita</i> , <i>S. mikawashima</i> , <i>S. mission</i> , <i>S. montevidео</i> , <i>S. newington</i> , <i>S. oranienburg</i> , <i>S. potsdam</i> , <i>S. singapore</i> , <i>S. tennessee</i>
C ₂ +C ₃	1,546	9.3	12	<i>S. alagbon</i> , <i>S. belem</i> , <i>S. blockley</i> , <i>S. bovis-morbificans</i> , <i>S. glostrup</i> , <i>S. hadar</i> , <i>S. kentucky</i> , <i>S. manhattan</i> , <i>S. muenchen</i> , <i>S. newport</i> , <i>S. kottbus</i> , <i>S. wippra</i>
D	161	1.0	5	<i>S. enteritidis</i> , <i>S. eastbourne</i> , <i>S. israel</i> , <i>S. miami</i> , <i>S. panama</i>
E	5,842	35.0	11	<i>S. anatum</i> , <i>S. give</i> , <i>S. krefeld</i> , <i>S. lexington</i> , <i>S. london</i> , <i>S. meleagridis</i> , <i>S. muenster</i> , <i>S. onireke</i> , <i>S. orion</i> , <i>S. senftenberg</i> , <i>S. taksony</i>
F	57	0.3	1	<i>S. rubislaw</i>
G	394	2.4	8	<i>S. bahati</i> , <i>S. cubana</i> , <i>S. gaminara</i> , <i>S. havana</i> , <i>S. poona</i> , <i>S. vaertan</i> , <i>S. raus</i> , <i>S. wichita</i>
H	4	<0.1	2	<i>S. carrau</i> , <i>S. sundsvall</i>
I	169	1.0	4	<i>S. nottingham</i> , <i>S. orientalis</i> , <i>S. saphra</i> , <i>S. welikade</i>
K	3	<0.1	1	<i>S. langenhorn</i>
L	3,138	18.8	4	<i>S. baguida</i> , <i>S. good</i> , <i>S. minnesota</i> , <i>S. wandsbek</i>
N	43	0.3	1	<i>S. zehlendorf</i>
O	345	2.1	1	<i>S. adelaide</i>
Q	3	<0.1	1	<i>S. champaign</i>
R	58	0.3	3	<i>S. bukavu</i> , <i>S. maricopa</i> , <i>S. shikmonah</i>
T	46	0.3	2	<i>S. uphill</i> , <i>S. fremantle</i>
U	1	<0.1	1	<i>S. houten</i>
X	20	0.1	1	<i>S. luke</i>
Total	16,688		93	

1株も検出されなかった。同一O群別中多くの菌型が検出されたものはB群の18菌型, C₁群の17菌型, C₂+C₃群の12菌型, E群の11菌型であった。

このように菌株の多いO群別ほど多くの菌型が検出される傾向が高かった。しかし, L群のように3,138株の多数の菌株にも拘らず4つの菌型で, そのほとんどが*S. good*, *S. minnesota*に片寄った例も認められた。また菌株数が345株で全株が*S. adelaide*であったO群の例も認められた。この菌型はオーストラリア由来カンガルー肉からのみ検出されたことは特異的であった。

一方, 分離株のO群別によるA, B, C₁, C₂, D, E群(A~E群)とその他の群のものとの検出傾向を比較すると前者は約74%, 後者は約26%であった。これは坂崎ら¹⁵⁾, 篠川ら⁵⁾のわが国の食肉由来の菌株

のO群別傾向ではA~E群に型別されるものは90~99%であると云う報告例に比べると非常に異っており, 輸入肉由来サルモネラ分布の1つの特徴と思われる。

H抗原またはH抗原群の分布傾向はTable 3に示すとおりである。すなわち, 検出されたH抗原またはH抗原群は20種で, e, h抗原群のものは全体の26.5%, 以下1抗原群のものは25.3%, en抗原群のものは15.7%, G抗原群のものは9.1%, b抗原のものは6.1%, L抗原群のものは4.9%, mt抗原群のものは4.4%, iおよびd抗原のものはそれぞれ2.5%で, これら9種類のH抗原またはH抗原群を有する菌株は全株の97%であった。この傾向は国内の大便, 食肉などから分離される菌株の分布傾向^{3,4,5)}と全く同様で, O群別の場合のような特異的傾向がH抗原に関しては認められなかった。

Table 3. Distribution of H-antigen in *salmonella* 16,688 strains isolated from imported meats (1965-1973)

H antigens	No. of strains	%
a	90	0.3
b	1,847	6.1
c	6	0.02
d	792	2.6
e, h	8,026	26.5
G	2,745	9.1
i	743	2.5
K	45	0.1
L	1,480	4.9
m, t	1,330	4.4
r	188	0.6
y	136	0.4
z	81	0.3
z ₄	2	0.01
z ₆	204	0.7
z ₁₀	111	0.4
z ₂₄	2	0.01
z ₂₉	47	0.2
en	4,751	15.7
l	7,653	25.3
Total	16,688	

以上のように輸入肉由来株の血清学的型別において、従来主として国内で分離される菌株用に市販されている型別用血清だけでは不十分で型別不能株が増加する可能性があり、そのため適確、迅速に外国からの影響を把握することが困難と思われる。その解決のためにも菌型の推移、国際化に対応する新たな抗血清を常備する必要がある。

ま と め

輸入肉および卵類のサルモネラ検査は1965年に始まり、爾来今日も継続されている。その間、その汚染実態については数回にわたり報告^{8,9,10)}してきたが、今回は検出した菌型を中心にその状況を報告する。過去9年間に約30,000検体から16,688株のサルモネラを分離し血清学的型別をおこなった結果93菌型に型別された。このうち既にわが国において検出、分離されている菌型を除いて輸入肉のみに検出された菌型はA～E群のうちでは *S. arechavaleta*, *S. preston*, *S. amersfoort*, *S. mission*, *S. belem*, *S. alagbon*, *S. glostrup*, *S. israel*, *S. onireke*, *S. wippra* などであった。なおA群に型別される菌株は1株も検出されなかった。

A～E群以外の菌型で検出率の高い菌型は *S. adelaide*, *S. raus*, *S. nottingham*, *S. good*, *S. minnesota*, などであった。そのほか稀れな菌型としては *S. bahati*, *S. wichita*, *S. carrau*, *S. baguida*, *S. langenhorn*, *S. uphill*, *S. fremantle*, *S. shikmonah*, *S. maricopa* などであった。

抗原的な分布の傾向は、O群別でみるとA～E群に型別される菌株の頻度は約74%、それ以外に型別されるものは約26%で、国内の食肉由来株の分布と全く異っていた。一方、H抗原またはH抗原群の分布では20種が検出され、その傾向は国内の食肉由来株の傾向とさしたる違いが認められなかった。

このようなことから輸入の食品などから分離されるサルモネラの同定には従来型別用血清として市販されているセットでは不十分で、O血清としてはG群、L群、O群などを、またH血清としては mt, z₆, z₁₀などを型別するための血清を常備しなければ十分に型別ができないことが現在までの輸入肉のサルモネラの調査研究から確認された。

今回の菌型同定に際しては国立予防衛生研究所坂崎利一博士の御援助によるところが大であり、茲に感謝いたします。

文 献

- 坂崎利一，中谷林太郎：長崎大学風土病紀要，6(3)，167 (1964)
- 坂崎利一，田村和満：予研年報 XXV, XXVI, XXVII (1971, 1972, 1973)
- 善養寺 浩：日本公衛誌，16(8)，680 (1969)
- 善養寺 浩：日本公衛誌，16(9)，729 (1969)
- 篠川 至：衛生検査，20(5)，251 (1971)
- E. van Oye: The world problem of Salmonellosis, (1964) Dr. W. Junk Publishers, The Hague
- 藤田 雅，須田光男，海老洋一，橋本和典：第79回日本獣医学会講演要旨，p. 3 (1975)
- 鈴木 昭，河西 勉他：衛生試報，85，188 (1967)
- 鈴木 昭，河西 勉他：衛生試報，89，129 (1971)
- 鈴木 昭，河西 勉他：食衛誌，15(3)，159 (1974)
- 橋本秀夫他：食衛誌，7(5)，428 (1966)
- 坂崎利一：Modern media, 11(9)，35 (1965)
- 鈴木 昭：Media circle, 16(2)，1 (1971)
- F. Kauffmann: The Bacteriology of Enterobacteriaceae, (1966) Munksgaard, copenhagen
- 坂崎利一：食品衛生研究，21，1010 (1971)
- E. Kelterborn: Salmonella species-First isolation, Names, and Occurrence-, (1967) Dr. W. Junk N.V. Den Haag, Holland

市販冷凍食品の糸状菌分布について

宇田川俊一・一戸正勝・谷口貞子・高島浩介・倉田 浩

On the Mycoflora of Frozen Food Products in Retail Markets

Shun-ichi UDAGAWA, Masakatsu ICHINOE, Sadako TANIGUCHI,
Kousuke TAKATORI, and Hiroshi KURATA

Sufficient evidence has accumulated to indicate that many of the micro-organisms capable of reproduction at low temperature multiply even more readily and rapidly at 20-25°. The prominence of low temperature microorganisms on flesh foods has long been known. However, until recently, little attention has been given to fungal occurrence in low-temperature environments such as frozen food products and their significance in the safety of food preservation. From this viewpoint, a preliminary survey was undertaken to determine the mycoflora of most common types of the frozen food products (e.g. precooked, vegetable, and seafoods).

Dilution cultures of 43 samples of the frozen food products at 5° yielded mostly less than 100 colonies of fungi per g. However, at the high temperature of 20°, the total counts were increased considerably. The representative constituents were identified as *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Phoma*, and *Trichoderma*. Among the fungi isolated, the following members of the genus *Penicillium* were widely distributed on each type of the frozen foods: *P. cyclopium*, *P. cyclopium* var. *echinulatum*, *P. spinulosum*, *P. steckii* and *P. waksmanii*. *Phoma* species were also found in all types of the samples. During the course of survey, the psychrophiles or psychromesophiles were *Aspergillus oryzae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Geotrichum candidum*, *Gliocladium roseum*, *Mucor* sp., *Phoma* sp., *Trichoderma* sp., and an unidentified fungus.

(Received May 31, 1975)

近年、食品の流通機構における変革にともなって、わが国における冷凍食品の普及も急速に上昇している。このような傾向は世界的に食糧危機が叫ばれているときでもあり、ますます強まるであろう。冷凍食品の場合は缶詰類と異なり、一般に製造段階で加熱殺菌されていないので原料が微生物によって汚染されていれば、その一部は製造中に生き残る可能性が高い。また、製造後消費されるまでの期間も長いので微生物学的に安全性が要求される食品である。

わが国での冷凍食品の微生物学的研究は、これまで細菌および酵母にとどまり、糸状菌についての実態は究明されていなかった^{1,2)}。しかし、欧米における報告例^{3,4)}では冷凍食品の種類により糸状菌汚染の実例もかなり存在し、不適切な取扱いによる環境の変化から菌の増殖を招き、食品の変敗をひきおこす可能性も考えられる。このような事情から、わが国で市販されている冷凍食品の菌類フローラについて調査を行なった。

試料および実験方法

調理食品 18(ハンバーグ、ピザパイ、チャーシューメン、フライポテト、コロッケ、フライ類)、農産食品

16(トウモロコシ、マメ、イモ、カボチャ、果実類)、水産食品 9(エビ、カキ、イカ、サケ、マグロ、クジラ)など市販冷凍食品 43 検体を使用した。

試料を無菌的に各 5 g あて秤量し、滅菌 0.01% 寒天液 45 ml とともにワーリングブレンダーで 3~5 分間ホモジネートし試料液とした。つぎに、試料液を 0.1 ml ずつ滅菌ベトリ皿 10 枚に加え、クロラムフェニコール 50 µg/ml 添加 PDA 培地(ジャガイモ-ブドウ糖寒天)を注いで平板とした。調製した平板は 5° および 20° で 1~3 週間培養し、その間に出現した糸状菌を分離同定した。また、分離株については PDA 斜面培養をもちいて 5° における発育状態を観察し、好冷性について判定した。

実験結果および考察

1) 糸状菌の生菌数

まず、分離培養温度 5° および 20° における糸状菌生菌数についての計測は Table 1, Table 2 に示す結果を得た。Table 1. のように低温での分離培養では供試食品の多くが 10²/g 以下の生菌数を示したのに対して、常温での数値は Table 2. のように調理食品で 72%, 農産食品で 62.5%, 水産食品で 55.5% が

10²/g 以上となり, 10³/g 以上の多量の糸状菌を含む試料は全体の 14% に及んだ。このことは潜在的にかなり著量の糸状菌が冷凍食品中に含まれている事実を意味し, 流通過程末端での冷凍管理の不行き届きはこれらの潜在性糸状菌の活動・増殖に結びつくことも考えられる。

冷凍食品中の細菌および酵母については, 原料の種類, 製造工程の多様性によって検出菌の種や数量に大きな差があるといわれている。通常, 市販冷凍食品には 10³~10⁵/g の細菌および 10²~10³/g の酵母が見出される。常温分離の糸状菌数は, これらの微生物にほぼ匹敵する数値であるといえよう。

2) 糸状菌の分離頻度と分布

つぎに, 分離糸状菌の分類群別にみた出現頻度を Table 3 に一括した。低温培養下では, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Phoma* の諸属が調理食品試料で, *Penicillium*, *Coniothyrium*, *Phoma*, *Trichoderma* が農産食品試料でそれぞれ主要分離菌群であった。一方, 水産食品試料では低温培養下の分離頻度が非常に低かった。常温培養下での分離糸状菌属はいずれの食品試料も増加し, 潜在的存在が特に注目される属は *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium* などであった。また, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Phoma* もそれぞれ低温時より著しい増加を示した。

以上の結果は, Kuehn, Gunderson⁴⁾ の冷凍調理食品 (各種のフルーツパイ) から検出された主要好冷糸状菌が *Aureobasidium*, *Phoma*, *Penicillium* などであったことと大体において一致した。

さらに, 菌種のレベルでの分布をまとめた結果が Table 4. である。Kuehn, Gunderson が指摘するように *Penicillium* は冷凍食品の菌類フローラとして最も重要な属の 1 つであるが, *P. cyclopium* 以下の 5 種が代表的 *Penicillium* として各種食品に広く分布していることを認めた。 *Phoma* sp. も同様に幅広い分布を示した。 *Aspergillus* としては, *Emericella unguis* (不完全世代 *A. unguis*), *Eurotium repens* (不完全世代 *A. repens*) が代表的であった。このほか, *Penicillium*, *Aspergillus* として, *P. adametzi*, *P. chrysogenum*, *P. meleagrinum*, *P. viridicatum*, *A. niger*, *A. versicolor* などが同定された。

以上の菌種が流通機構のいずれの段階で由来したかは明確でないが, とくに農産食品の場合は原料に由来している可能性が強く, 今後加工原料についても検索する必要がある。また, 分離株中にマイコトキシン生産菌が含まれているかどうかについても, さらに研究を重ねなければならない。

3) 分離菌の好冷性

分離菌 70 株について PDA 培地上で 5°. 1 週間培養した結果, Table 5 に示す 8 種 10 株が好冷性を示した。これらの中でとくに低温下で良好な生育を示した菌は, 低温分離培養によって得られた *Trichoderma* sp., 常温分離培養によって得られた *A. oryzae* 以下 3 株であった。以上の結果から冷凍食品試料から分離された糸状菌の多くは中温菌に属し, なかでも耐冷性

Table 1. Fungal counts recorded on frozen food products at 5°

Type of food	No. of samples recorded		
	1-100*	100-1,000	1,000-10,000
Pre-cooked	15	3	0
Vegetable	14	1	1
Seafoods	8	1	0

* Counts expressed as no. per. g.

Table 2. Fungal counts recorded on frozen food products at 20°

Type of food	No. of samples recorded		
	1-100*	100-1,000	1,000-10,000
Pre-cooked	5	11	2
Vegetable	6	7	3
Seafoods	4	4	1

* Counts expressed as no. per g.

Table 3. Frequency of occurrence of fungi isolated at two temperatures from frozen food products

Genus	Pre-cooked (18)*		Vegetable (16)*		Seafoods (9)*	
	5°	20°	5°	20°	5°	20°
<i>Aspergillus</i>	1**	9	1	6		4
<i>Candida</i>		6				2
<i>Chaetomium</i>	1	1				1
<i>Cladosporium</i>	3	5	1	6		3
<i>Coniothyrium</i>			2	1		
<i>Fusarium</i>		3		1		
<i>Geotrichum</i>	3	3				
<i>Mucor</i>		2	1			
<i>Paecilomyces</i>		2		1		
<i>Penicillium</i>	6	11	3	7	1	4
<i>Phoma</i>	3	7	2	3		6
<i>Scopulariopsis</i>	2	1		1		
<i>Trichoderma</i>		3	2			

* Total samples. ** Detected samples.

Table 4. Distribution of fungi isolated at two temperatures from frozen food products

Species	Pre-cooked (18)*		Vegetable (16)*		Seafoods (9)*	
	5°	20°	5°	20°	5°	20°
<i>Candida</i> sp.		+++**		+		+
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	++	++	+	+		
<i>C. sphaerospermum</i>		+		+		++
<i>Coniothyrium</i> sp.		+	+	+		
<i>Emericella unguis</i>		++		++		+
<i>Eurotium repens</i>	+	+		+		
<i>Geotrichum candidum</i>	++	++				
<i>Penicillium cyclopium</i>	+	+				
<i>P. cyclopium</i> var. <i>echinulatum</i>			++	+	+	+
<i>P. spinulosum</i>	+	+				++
<i>P. steckii</i>		+	+	+		+
<i>P. waksmannii</i>		+	+	++		
<i>Phoma</i> sp.	++	+++	+	++		++
<i>Scopulariopsis</i> sp.	+	+		+		
<i>Trichoderma</i> sp.		++	+	+		

* Total samples.

** Relative prevalence was shown by the following symbols:

+=Occasional, ++=Common, +++=Abundant.

Table 5. Growth rate and psychrophilic property of fungal isolates incubated at 5° on PDA medium

Fungus	Growth rate at 5°	No. of isolates	
		5°**	20°**
<i>Aspergillus oryzae</i>	++*	1	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	++	1	
<i>Geotrichum candidum</i>	+	2	
<i>Gliocladium roseum</i>	+	1	
<i>Mucor</i> sp.	++	1	
<i>Phoma</i> sp.	+	1	1
<i>Trichoderma</i> sp.	++	1	
Unidentified fungus	+	1	
Total		5	5

* Growth rate: ++=Rapid, +=Moderate.

** Temperatures for primary isolation from frozen food products.

のある菌株のみが低温培養下で分離されたものと考えられる。したがって、冷凍食品が完全に凍結貯蔵されている限りにおいては、これら糸状菌の増殖は抑制されると思われる。

しかしながら、低温環境下の糸状菌の挙動に関する Berry, Magoon⁵⁾ の報告によれば、-4° では *Pseudo-*

monas, *Lactobacillus* のような細菌とともに *Monilia* sp., *Penicillium* spp. の生育が、-6.7° では *Cladosporium* sp., *Sporotrichum* sp. の生育がみられるという。このように 0° ~ -10° の範囲で数種の糸状菌が発育する事実は Frazier⁶⁾ も指摘している。したがって、冷凍食品類における好冷菌、耐冷性中温菌としての糸状菌の存在は食品衛生上無視できない微生物群の 1 つと考えられる。

要 約

各種冷凍食品 43 試料について糸状菌の分布を調査し次の結果を得た。

低温分離培養では試料のほとんどが生菌数 10²/g 以下であったのに対して、常温での分離では 10³/g 以上、あるいは 10³/g 以上を示す試料が増加した。潜在的に相当量の中温菌が冷凍食品中に存在すると思われる。

低温下で調理・農産食品から分離された主要糸状菌は *Penicillium*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Phoma*, *Coniothyrium*, *Trichoderma* で水産食品は糸状菌の分離頻度が低かった。これらの中で、*Penicillium* 属は *P. cyclopium* 以下 5 種 (Table 4) が代表的であった。

分離 70 菌株中 *Trichoderma* sp. 以下 8 種 10 株

(Table 5) が好冷性を示したが、大部分は耐冷性中温菌～中温菌であった。しかし、低温環境下での糸状菌の発育が報告されているので、冷凍食品中の糸状菌の存在は食品衛生上無視できない。

文 献

- 1) 駒形和男, 小川博望: 食衛誌, 7, 234, 239, 248 (1966)
- 2) 横山真佐子, 柴崎一雄: 食品工誌, 14, 49, 247 (1967)
- 3) H.F. Smart: *Phytopathology*, 24, 1319 (1934)
- 4) H.H. Kuehn, M.F. Gunderson: *Appl. Microbiol.*, 10, 354 (1962); *ibid.*, 11, 352 (1963)
- 5) J.A. Berry, C.A. Magoon: *Phytopathology*, 24, 780 (1934)
- 6) W.C. Frazier: *Food Microbiology*, 2nd Ed., p. 537 (1967), McGraw-Hill, Inc., New York

薬用植物の栽培試験（第4報）

ホッカイトウキ（北海当帰）の育苗について*

堀越 司・本間尚治郎・古木益夫**

Studies on the Cultivation of Medicinal Plants. IV.

On the Raising of Seedling of *Angelica acutiloba* Kitagawa var. *sugiyamae* Hikino

Tsukasa HORIKOSHI, Naojiro HOMMA and Masuo FURUKI

This experiment was carried out in order to establish the method of early raising of seedling of *Angelica acutiloba* var. *sugiyamae* in vinyl house with the electric hot bed.

- 1) The growth of seedling was not different between the hot bed and cold bed, and better with the manuring.
- 2) The weight of seedling was greatest in the Plot I (hot bed-manuring-thinning) and smallest in the Plot VII (cold bed-non-manuring-thinning), among the 8 experimental plots.
- 3) For the purpose of the early raising of seedling of *A. acutiloba* var. *sugiyamae*, effect of the manuring was remarkable and those of the hot bed and thinning were not clearly observed.

(Received May 31, 1975)

トウキ（当帰）*Angelica acutiloba* Kitagawa は、セリ科の多年生草本で、関東、東北などに自生している¹⁾。全草に特異の香気を有し根を乾燥して薬用とする。根にベルガプテンや精油を含み、漢方では、鎮痛、鎮静、強壯、貧血、冷え症、月経不順など婦人病に多く用いられる²⁾。

わが国における栽培面積は、53～67 ha で、その生産量は、307～350 トンであり³⁾、全体の90%以上が北海道で栽培されていて⁴⁾、北見地方を中心に名寄、下川地区が主産地となっている。

本道で栽培されているトウキは、ホッカイトウキ（アオトウキ）*A. acutiloba* Kitagawa var. *sugiyamae* Hikino と称し、ヤマトウキ（アカトウキ）*A. acutiloba* Kitagawa form. *acutiloba* と区別されている⁵⁾。

著者らは、道北地方において播種法や時期を逸すると発芽しないことがあるため、ホッカイトウキの育苗を確実にすると同時にハウス内で、ビニールトンネル方式で電熱利用による当年生苗の早期育成を目標に本試験を実施した。

材料および方法

1974年3月10日、ハウス内にホッカイトウキを播種し、発芽は3月23日～5月3日で70～80%となり、掘り上げ水洗調査は4月26日、5月4日、5月17日、5月31日、6月19日の5回行った。播種床には3月1日に畑土即ち植填土を搬入し、キノックス4：畑土6の割合に混合しpHは6.0～6.5に調整した。床土の深さは、10～15 cm とし、ぬき板にて仕切り、電源は200 volt, 100 W とし、断熱材を入れ20°に保温した。播種量は、16.5 m² 当り 1 l とし、播種後は、レーキにて攪拌した。床はトンネル式に屋根をつくり、

* 日本作物学会第158回講演会にて一部発表

** 北海道生薬公社 生産部

Fig. 1. Experimental plot

Plot	Electric hot bed	Manuring	Thinning	I 1~2
			Non-thinning	II "
		Non-manuring	Thinning	III "
			Non-thinning	IV "
	Cold bed	Manuring	Thinning	V "
			Non-thinning	VI "
		Non-manuring	Thinning	VII "
			Non-thinning	VIII "

Table 1. Growth of *Angelica acutiloba* var. *sugiyama* ('73. 6.19)

Plot	Leaf length & width (cm)	Length of petiole (mm)	Length of root (cm)	Diam. of root top (mm)	No. of lateral root
I	6.6×8.8	20.0	4.5	10.3	21.7
II	5.4×6.4	18.7	4.5	11.6	21.1
III	1.1×1.3	2.3	1.6	8.7	14.9
IV	0.9×1.1	2.1	1.6	10.0	17.8
V	5.4×7.4	18.2	4.1	11.6	21.4
VI	5.0×6.9	19.0	3.8	11.3	19.5
VII	0.8×0.9	1.5	1.2	7.7	13.0
VIII	0.9×1.0	2.0	1.2	10.6	15.7

All data are mean-values based on 20 plants per plot

厚さ 0.03 mm のポリエチレンにて被覆し更にその上に厚さ 0.05 mm のビニールにて被覆した。管理は通気、灌水など朝夕見回り、完全に実施し、温度調節も併せ行なった。

試験区分は、Fig. 1 のようである。I～IVまでは、電熱温床区で更に I～IIは施肥区であり、III～IVは無肥料区である。V～VIIIは冷床区で V～VIは施肥区であり、VII～VIIIは無肥料区である。前記区に対し、I、III、V、VII区は間引きを実施したが、II、IV、VI、VIII区は間引きをしないものである。I～VIIIまではそれぞれ2回のくり返しである。なお施肥区の肥料は次のように施用した。

基肥 (3.3m ²)	3月9日	ビート育苗用肥料 600 g (チッソ 9:リンサン 13: カリ 4:ホウソ少量)	
		熔燐	600 g
追肥 (3.3m ²)		鶏糞	1,000 g
		4月19日 硫酸	250 g
		5月1日 "	330 g
		5月7日 { "	330 g
		5月12日 { 熔燐	500 g

結果および考察

1) 生育については、Table 1 のとおりであるが、温床、冷床ともに施肥をすると、生育は全般に無肥区に比し、優る傾向を示した。ただし、間引区は間引きをしない区に比し劣る傾向を示したが、掘り上げ時の断根などの物理的障害によるものと思われる。

電熱利用や間引きによる効果は明確でなく、むしろ全般に施肥効果が顕著であった。これらのことは、周囲の状況が温暖となり、冷床でも殆んど生育可能であったことなどに起因したものと考えられる。

2) 苗の特性については Table 2 のとおりであるが、生体重は地上部、地下部ともに温床—施肥—間引き区が全区中最も多く、冷床—無肥—間引き区は最少であることを確認した。乾物重でも生体重とはほぼ同様な傾向を示した。

地上部と地下部の収量の比、いわゆる T-R 率については、生体、乾物ともに冷床—無肥—間引き区が最高であり、冷床—施肥—間引き区が最低であった。

以上のことから、ホッカイトウキの育苗時における施肥効果は顕著であったが、電熱利用による保温や間引きなどについては明確な傾向は認められなかった。

Table 2. Weight and T-R ratio of seedling of *A. actiloba* var. *sugiyamae* ('73, 6. 19)

Plot	Top weight		Root weight		T-R ratio	
	Fresh (g)	Dry (g)	Fresh (g)	Dry (g)	Fresh (g)	Dry (g)
I	43.0	6.2	11.7	2.3	27.2	26.2
II	32.1	4.7	8.4	1.6	26.2	34.0
III	1.4	0.2	1.0	0.2	71.0	100
IV	1.0	0.2	1.0	0.2	100	100
V	34.4	4.9	8.6	1.4	25.0	28.0
VI	27.8	5.1	7.2	1.7	25.9	34.0
VII	0.5	0.1	0.9	0.2	180	200
VIII	0.6	0.1	1.1	0.3	183	300

All data are mean-values based on 20 plants per plot

今後は所期の目標に則り、実施時期や方法など更に検討を加え、追求してゆきたい。

摘 要

ホッカイトウキの育苗について北海道北地方におけるハウス内ビニールトンネル方式で、電熱利用による当年生苗の早期育成を目標に試験を実施検討した。

1) 生育については、温床区、冷床区の違いに殆んど差異は認められず、むしろ施肥の効果が高い傾向を示した。

2) 苗重については、温床—施肥—間引きの組み合わせが最も多く、冷床—無肥—間引きの組み合わせが最少であった。

3) ホッカイトウキの早期健苗育成について、施肥効果は顕著であったが、電熱利用や、間引きなどについては明確な傾向は認められなかった。

文 献

- 1) 藤田早苗之助：薬用植物栽培全科，274（1972）農山漁村文化協会
- 2) 刈米達夫ほか監修：広川薬用植物大事典，237（1963）広川書店
- 3) 厚生省薬務局：生薬資料，29（1972）
- 4) 財団法人 日本公定書協会編：新しい薬用植物栽培法，262（1970）広川書店
- 5) 北海道衛生部：北海道の薬用植物，14（1972）

業 務 報 告

Annual Reports of Departments

昭和49年度当所業務概況

所 長 川 城 巖

昨年度の経済的危機による影響は本年度においても深刻で、物価上昇傾向は続き、電力、鋼材、石油製品、その他、私鉄運賃、生産者および消費者米価、国鉄運賃、医療費、郵便小包料金など多岐に渉って大幅に値上げされた。そして他面では繊維その他の業界の不況、倒産が伝えられるような情勢であった。その間政府は狂乱物価対策として基礎物資の価格凍結を約6カ月間におよんで実施するなど種々苦心の施策が行われたが、要するにこの1年は経済的不安な時代を克服するための模索の年であったといえる。

さて国立衛生試験所自体についていえば、まず予算的面に關しては総務部長の業務報告で詳記してあるが、総括的には49年度予算は国の財政的事情から止むを得ないことではあるが、あまり華々しいものはなかったと考える。

ただ毒性関係部門に8名、療品部に1名の研究職増員のあったことは近年まれなことであったし、また他の試験研究機関にもその例を見ないようである。予算の概算要求中最も力点を置いたのは当然のことながら、毒性試験研究部門の施設、所謂、安全センター(仮称)に關するものであったが、総需要抑制の国策のもと、基本設計料程度で49年度は過ぎねばならないこととなった。

試験研究業務の面は、二号館改修のため過去2年間、各方面で不便、不都合があった。しかし、工事を終了してみると細い点ではなお手直しを必要とした箇所もないではなかったが、総体的には同館は内装、内部設備とも相当程度改善されたといえる。この状況の下で、49年度の業務はやっと本来の調子を取り戻した。

5月9日には伊豆半島沖地震が発生、そのため伊豆薬用植物栽培試験場にも可成りの損害があり、とくに温室2棟は損傷がはなはだしかった。しかし幸にして、職員およびその家族には被害の全くなかったこと

は喜びにたえない。

その頃、用賀の本所はまさに当所創立百周年記念式典の準備に忙殺されていた最中であつたが、伊豆試験場に人的被害なしの報により、まず安堵の胸をさするとともに準備作業も快テンポに進捗した。

5月18日、式典当日は文字通りの快晴に恵まれ、全所員諸君の見事な協力体制のもとに1世紀に1回の創立記念式典の幕は開かれた。東京司薬場以来100年の歴史に綴られた先人の遺業を偲び、今日の国立衛生試験所をあらしめた先人の苦勞の跡をあらためて顧みる絶好の機会に恵まれたわれわれは、当所100年の歴史の最後のページを書き終るとともに、衛試第2世紀の黎明に際し衛試将来の発展のためさらに一層の奮勵努力を誓つたのである。なお当日の様相についての記述は担当部長の筆に任せる。

創立100周年を記念するための事業のうち、100年史編集はもっとも勞苦の多い難事であつたが、所外所内からその方面についてきわめて適任の人々が選任され、緊密な連係の下に鋭意作業を進めた甲斐あつて、美事な書籍が年度内に完結発刊の運びとなつた。この紙面をかりて、直接その衝に当られた各位の勞を心からねぎらいたい。

さて当所の所謂安全センター(仮称)を建設するための用地の選定については、かねてより内局とも相談中であつたが、第一希望地として横浜市金沢区内に在る国有地を挙げ、同地にセンターを建設することについて市当局と正式に協議を開始(6月24日)したが、ついに意見の一致を見るに至らず、止むなく別途用地の物色に努力した。しかし、地理的に適当なものがなく、結局は上用賀本所構内の敷地を利用することに落着した。

次に、本年度中の各試験研究部の業務は別項の通りであるが、近頃の現象として漸次検定検査業務と研究

業務の比率がより後者に傾斜する様相が窺取される。しかし、これは厚生行政に必要な基本的研究を促進することを大きな使命とする当所においては必然の姿と考えられる。特別行政試験の内容もますます研究の要素を包含する傾向にあるが、たまたま7～8月頃から一大社会問題的背景をもって食品添加物AF-2の毒性論議が展開された。その際、当所関係部においてかねてから実験収集した綿密なデータが決定的要素となり、発ガン性ありとする結論のもとに、適当な行政措置がとられ、熾烈な社会的物議も間もなく鎮静したことは今なお思い出深いことである。

また、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」もいよいよ10月より実施され、引き続き同法施行に伴って若干の有害物質について規制基準も定められた。家庭用品を担当する理化学および生物系部門もいよいよ本格的な作業体制にはいった訳である。

また、年末には岡山県水島コンビナートに在る重油タンクに漏洩事故が発生し、瀬戸内海を囲む10数府県において、重油による大広域の環境汚染ひいては魚介類汚染の問題がぼつ発した。この事件にも当所は関係をもち、毒性部門、食品部門が事件処理のための技術的貢献をした。

さて、50年度概算要求に対する大蔵省の内示は50年1月にはいってから行なわれたが、この1年間片時も脳裏を離れなかった執念の「センター」建設費は、やっと念願かかって認められた。しかし、その内容をこの稿末に記録するには余りに重要なことであるので、次の機会に稿をあらためて特筆大書することにした。

総 務 部

部長 北村正隆

1. 組 織

化学物質の審査および製造等の規制に関する法律が昭和49年4月16日から施行されたことに伴い、同日付で毒性部においては「化学物質」についての中毒学的試験検査等の業務が追加される（厚生省組織規程第64条の10）と共に、毒性部毒性第二室の業務についても同様の趣旨の改正が行われた（国立衛生試験所組織細則第50条の4）。

また、昭和49年度等級別定数の改訂によって、昭和49年4月1日から主任研究官4名増で33名（国立衛生試験所組織細則第3条の2）に改正されると共に、大阪支所庶務課長補佐が新規に設置された（同組織細

則第1条の2）。

2. 定 員

昭和48年度末の定員は297名であったが、昭和49年度当初に第二次定員削減計画に基づき行政職(一)3名、行政職(二)2名計5名の定員が削減された。一方、昭和49年7月1日から研究職の増員9名（療品部1名、毒性部8名）の増員が認められたので、同日以降の定員は指定職2名、行政職(一)54名、行政職(二)46名、研究職199名、計301名となった。

3. 予算および決算

昭和49年度の当初予算額は、資料1のとおりである。

なお、このほかに、「食品医薬品等安全センター（仮称）」庁舎の建設のための基本設計料27,052千円が厚生本省の事務経費として別途計上された。

昭和49年度の決算は、資料2のとおりである。

4. 施設および機械器具

(1) 施設 資料3のとおりである。

(2) 機械器具 資料4のとおりである。

5. 「食品医薬品等安全センター（仮称）」の建設

昭和46年7月厚生省に設けられた「食品医薬品および家庭用品の試験検査体制の整備に関するプロジェクトチーム」の報告等により、当所は「食品医薬品等安全センター（仮称）」を設置することとなった。このため、昭和49年度においてその施設整備費につき予算要求を行ったが、結果的に厚生省の事務経費の中で基本設計料が認められた。その後、昭和49年8月に至り、その施設の建築面積は7,790 m²との規模査定があった。

6. 「薬用植物研究施設（仮称）」の建設計画

昭和47年5月の閣議決定により、当所の一部を筑波研究学園都市に移転させることとなった。この決定にもとづき、当所としては、薬用植物の栽培等に関する試験研究の近代化を図ると共に、その組織と運営を合理化することを日途として、春日部薬用植物栽培試験場を同学園都市に移転させ、これを他の4か所の試験場の中心的な「薬用植物研究施設（仮称）」として設置するとの構想をたてた。その後、昭和48年4月の閣議決定により、同研究施設の概成時期を昭和50年度、移転時期を昭和51年度に行うことになったため、昭和49年度においてその所要経費につき予算要求を行ったが、認められなかった。

7. 手数料等の改正

(1) 国家検定手数料

当所が検定することとされている医薬品（43品目）についての国家検定手数料は、昭和50年3月15日に

厚生省告示第 56 号で改正され、平均 123% の値上げが実施されることとなった。

(2) 試験検査依頼手数料

当所が依頼を受けて行う試験検査（17 品目）の手数料は、昭和 50 年 3 月 31 日厚生省告示第 69 号で改正され、平均 124% の値上げとなり、同年 4 月 1 日から適用されることとなった。

(3) 標準品の価格

当所が製造し、申請者に交付している医薬品等試験用標準品（51 品目）および色素試験用標準品（37 品目）の価格は、昭和 50 年 3 月 31 日厚生省告示第 68 号で改正され、前者については平均 123%、後者については 125% の値上げとなり、同年 4 月 1 日から適用されることとなった。

なお、当所が検査することとされている食品添加物（タール色素）についての製品検査手数料の改正は、昭和 50 年度に持越された。

8. 創立 100 周年記念事業

(1) 記念式典

ア 期日 昭和 49 年 5 月 18 日（土）

イ 場所 本所中庭

ウ 式次第

開会の辞 副 所 長 下村 孟
式 辞 所 長 川城 巖
告 辞 厚生大臣 斎藤 邦吉
おことば 常陸宮殿下
来賓祝辞 衆議院議員 八田 貞義
日本医学会会長

小林 芳人

日本薬学会会頭

柴田 承二

国立予防衛生研究所長

柳沢 謙

閉会の辞 総 務 部 長 北村 正隆

ニ レセプション

出 席 者 500 有余人

(2) 記念植樹

常陸宮同妃両殿下のお手植

(3) ゲールツ先生顕彰碑移設除幕式

ア 場 所 本所前庭

イ 除幕者 清水藤太郎

長与 華子

(4) 100 年史の発刊（昭和 50 年 3 月 発刊）

資料 1. 昭和 48・49 年度当初予算額の比較

	昭和 48 年度 千円	昭和 49 年度 千円	備 考
(組織) 厚生省試験研究機関	924,975	1,053,919	114%
(項) 厚生本省試験研究所	800,936	918,230	115%
人 当 経 費	598,699	707,396	118%
一 般 事 務 経 費	58,814	47,628	81%
			研究職の定員 9 名増のほか、定期昇級およびベースアップによる増
			49 年度で警備保障費が予算化 (2,944 千円) されたが、特別修繕で減額をみた。
			48 年度 2 号館改修 27,984 千円
			49 年度大阪変電設備 8,820 千円
			〃 和歌山温室改修 2,904 千円
研 究 費	141,958	161,796	114%
			研究職増員分 9 名と人当研究費 800 千円→860 千円
			特殊燃料費の予算化 5,000 千円
標 準 品 製 造 費	1,465	1,410	96%
(項) 血清等製造及検定費	83,499	96,716	116%
			節約による減
(項) 国立機関原子力試験研究費	35,216	35,754	102%
(項) 放射能調査研究費	5,324	3,219	61%
			手数料改訂に伴う検定検査材料費の増額
			テーマ変更に伴う備品費の減

(注) 移替予算額を除く

資料 2. 昭和 49 年度決算額一覧表

(組織)	厚生本省試験研究機関	1,231,573,646円
(項)	厚生本省試験研究所	1,079,443,394円
	国立衛生試験所運営費	1,079,443,394円
	人当研究費	124,933,000円
	特別研究費	17,420,000円
	特別修繕費	12,550,000円
	和歌山薬用植物栽培試験場温室改修工事	2,950,000円
	大阪支所受変電設備工事	9,600,000円
	その他	924,540,394円
(項)	血清等製造及検定費	96,370,431円
(項)	国立機関原子力試験研究費	35,049,623円
(項)	放射能調査研究費	3,217,694円
(項)	特別研究促進調整費	6,093,750円
(項)	環境保全総合調査研究促進調整費	2,025,500円
(項)	国立機関公害防止等試験研究費	9,373,254円
(組織)	厚生本省	195,427,578円
(項)	厚生本省	195,427,578円
	庁費	19,931,222円
	食品試験検査費	45,154,974円
	家庭用品等試験検査費	130,341,382円
(組織)	環境庁	6,751,922円
(項)	環境庁	6,751,922円
	合計	1,433,753,146円

資料 3. 昭和 49 年度施設等整備状況

(本所)	49 年 5 月	構内通路舗装工事	} 建設省支出委任分
	49 年 7 月	8 号館空調機取替工事	
	49 年 8 月	2 号館 3 階冷房設備工事	
	50 年 2 月	12 号館揚水ポンプ設備工事	
	30 年 3 月	2 号館冷房設備工事	
(大阪)	50 年 3 月	大阪支所受変電設備工事	
(和歌山試験場)	49 年 12 月	温室改修工事	
(伊豆試験場)	49 年 5 月	伊豆半島沖地震により配湯タンク、温室等に災害を受けた。	

資料 4. 昭和 49 年度備品関係予算額および主要備品整備状況

動物舎特殊備品購入費	17,235 千円	(ベルト式動物飼育機等)
研究用機械購入費	13,087 千円	(質量分析用データー処理装置 1 式 外 5 点)
特別研究用機械購入費	7,265 千円	(低温恒温恒湿装置 1 式 外 5 点)
検定検査用機械購入費	10,296 千円	(ガスクロマトグラフ 1 台 外 4 点)
原子力試験研究用機械購入費	15,219 千円	(分析用高速液体クロマトグラフ 1 台 外 4 点)
放射能調査研究費	1,170 千円	(放射線計測装置 1 台)
厚生本省その他機械購入費	21,329 千円	(赤外分光光度計 1 台 外 10 点)
計	85,601 千円	

合成化学研究部

部 長 鈴 木 郁 生

研究業績

1) 生物活性を有する化合物の合成化学的研究

i) 1,1'-polymethylenebis(1-nitrosourea)類の合成
昨年度に引続き、中央橋状部の両側にニトロソ尿素

$$\begin{array}{c} \text{NO} \qquad \text{NO} \\ | \qquad \quad | \\ \text{N}_2\text{NOCN}-(\text{CH}_2)_n-\text{NCONH}_2 \end{array}$$

基をもつ化合物 ($\text{N}_2\text{NOCN}-(\text{CH}_2)_n-\text{NCONH}_2$) の抗腫瘍性に関する研究が続行された。合成された化合物は $n=2\sim 10$ および $n=12$ の 10 種であり、 $n=12$ を除きいずれの化合物もラットの Ascites Hepatoma AH-13 およびマウスの白血病 L-1210 に対しかなりの効果を示したが、研究の結果、 $n=2$ の 1,1'-ethylenebis(1-nitrosourea) (EBNU) が最も効力がすぐれ、溶解度も他の化合物より高いことが判明した。そこで文部省癌特別研究Ⅱにより、医化学部の協力を得て、この化合物の生化学的な研究を、また薬理部によって酵素活性阻害に関する研究を行なった。薬品病理部では前年に引続いて細胞学的な研究が実施された。(→学会発表 4, 101)

さらに EBNU の制がん性を他の腫瘍についても検討する目的で佐々木研究所との共同研究も開始した。

なお 2, 3 の尿素系ビスニトロソ誘導体も合成し、その制癌性と構造の関連について吟味した。

ii) ピリダジンおよびシンノリン化合物の合成

合成されたピリダジンおよびシンノリン N-オキシドのニトロ化体の突然変異誘発作用については昨年既に報告したが、本年度はこれら化合物の制癌性について、その構造との相関がまとめられた。(→学会発表 89)

シンノリンについては 3 置換シンノリンの N-オキシド化について研究が行なわれ、ピリダジン 1,2-dioxide についてはその求電子反応などについて検討が加えられた。(→学会発表 1)

新しい化合物としてピリダジンのトリアツェン誘導体の合成が開始され、(→学会発表 2) これら化合物の制癌作用について検討される予定である。

以上の研究は上記の各部のほか、衛生微生物とも共同研究がなされ、研究費の一部は文部省の科学研究費を使用した。

2) 発癌と化学構造に関する研究

アルキルニトロソウレタン、アルキルニトロソ尿素類の発癌実験は、昨年度に引続いて薬品病理部と共同

で続行中である。また同時に衛生微生物部の協力を得て、これら化合物の突然変異誘発作用と構造との関係についても研究が行なわれた。(→学会発表 87, 92, 誌上発表 74, 76, 78, 79)

先に述べたビスニトロソグアニジン化合物のうち $n=6$ の化合物について新生仔マウスによる発癌実験も行なわれ報告されている。(→学会発表 99)

以上のほかニトロソ基をもつピリジン誘導体数種の合成がなされ、その突然変異誘発作用、発癌性などについて研究が始められている。

3) 薬品病理部、薬理部、薬品部と共同で厚生省癌特別研究「癌原性検索法の確立に関する研究」を行なった。この研究に関して当部は研究班員に対し、30 種の検体の調製、配布を行った。

薬 品 部

部 長 井 上 哲 男

概要 昭和 49 年 8 月、第三室の北条正躬技官が天折された。有為の人材を失ったことは惜しみても余りあるものがある。心から哀悼の意を表する次第である。昭和 50 年 3 月、第二室の石橋無味雄技官がスリランカ国の Drug Quality Control Laboratory から 1 カ年間の専門家としての任務を果たして帰国した。

検定および検査業務については、総件数において昨年度より若干減少しているが、その余力を研究面に対する勢力に転換し、とくに本所の特別研究課題「製剤技術の進歩に伴う医薬品の安全性の確認に関する研究」に対して、製剤の溶出試験方法の検討およびその Bioavailability との相関関係についての研究に主力をそそいだ。

この 2, 3 年来、当部における研究の対象が、主として製剤面に向けられ、ことに医薬品の経時変化ならびに Bioavailability へのアプローチなどに関心を示しつつあることは注目すべきことといえる。

なお、昭和 51 年 4 月に改正される日本薬局方の収載各条品目および一般試験法についての基礎データの作成作業に、当部の勢力がそそがれていることは、恒例とはいえ特記すべきことである。

また、他部との共同研究として、幻覚剤対策費による研究も昨年度に引き続き実施しており、合成した Psilocybin および LSD を毒性部へ供給したこと、および春日部植物栽培試験場との共同研究として「けしの全草抽出法に関する研究」の一環として、依頼試料 (81 件) の分析を行なったことなどが挙げられる。

業務成績

1) 国家検定

件数の多いものから列記すると、ブドウ糖注射液(47.4%)、エタンプトール錠(25.2%)、エタンプトール(17.0%)、避妊薬(6.4%)、リンゲル液、プロチオナミド錠、プロチオナミドの順となっており、総件数(858件)は昨年度より若干減少している。

2) 特別審査試験

新医薬品に関係するもの(61件)、解熱鎮痛剤に関係するもの(36件)、および殺虫剤(7件)があり、新医薬品、殺虫剤については、近年、規格および試験法に対する規制の強化と相俟って、試験項目および試験法の内容が充実する傾向にあり、件数は昨年度に比し減少しているが、総体的に審査に要する手数のかかるものが多くなる傾向にある。

3) 一斉取締試験

各種錠剤の崩壊試験(101件)を行なっている。本年度の特徴は、この崩壊試験と平行して、各種溶出試験装置による検討も併せて行ない、同一検体を用いて取締試験とを兼ね、各社の錠剤の差異の実態を部分的ではあるが、知り得たことは、今後の行政指導に寄与するものと考ええる。

4) 特行試験

生薬のみの配合を表示する人參回生再造丸中の合成消炎鎮痛剤の検出および定量(2件)、クロラムフェニコール錠の崩壊試験(4件)があり、とくに前者については昭和48年初期頃から北九州地方に外国製漢方製剤として出まわり、この丸剤が速効性の消炎作用、鎮痛作用を有するとしてリウマチ様疾患をもつ一部の患者の間で賞用されていたようである。処方内容からみて、服用者の称する速効性が考えられず、何か他に作用発現の主導をなすものの存在が考慮されるとして、試験を行なった結果、アミノピリンおよびフェニルブタゾンの存在を確認し、定量を行なったものである。

5) その他

臨床診断用医薬品基準(案)に対する検討データの提出(審査課へ報告)、医薬品添加物(5品目)の規格および試験法、ならびに安定性に関する調査および実験結果の提出(審査課へ報告)、殺虫剤指針改訂に関する基礎データの作成(リン系殺虫剤の原薬および製剤14品目、審査課へ提出)などの作業も行なっている。

研究業績

本年度行なった研究のうち、成果を得たものは下記のとおりである。

1) 医薬品の規格および試験法の作成に関する研究

i) 医薬品の溶出試験に関する研究(厚生科学研究)

2) 医薬品の分析化学的研究

i) 乾燥酵母中のベンゾ(a)ピレン〔衛生試報, 92, 63 (1974)〕

ii) ホウ酸錯塩のけい光(第5報) サリチル酸エステル類ホウ酸錯塩の発けい光性と構造との関連について(→誌上発表 14)

3) 製剤の分析化学的研究

i) 混合製剤の分析に関する研究(第29報)

アセトアミノフェンの比色定量

ii) 二波長デンシトメトリーによるスルファミン剤および混合製剤の定量(→誌上発表 19)

iii) 二波長分光測光法による混合製剤の定量(第2報)。

マレイン酸クロルフェラミン製剤の定量(→誌上発表 18)

iv) 二波長クロマトスキャナ法による各種感冒剤の定量〔衛生試報, 93, 31 (1975)〕

v) 液体クロマトグラフィーによる薬品分析 IV 解熱鎮痛剤の分離定量(→学会発表 7)

vi) ガスクロマトグラフィーによる乳剤中のDDVP, Dipterex の定量(→学会発表 8)

4) 安定性に関する研究

i) スルピリン水溶液の安定性について(→学会発表 12)

5) 有効性に関する研究

i) 医薬品の溶解試験に関する研究(I) スルファジメトキシン粉末の溶解に及ぼす諸因子ならびに添加物の影響(→学会発表 9)

ii) 医薬品の溶解試験に関する研究(II) Column Type 装置による粉末の溶解(→学会発表 10)

iii) 人における薬物の Bioavailability と in vitro 溶出速度との関連性 スルファジメトキシンについての検討(→学会発表 11)

iv) クロラムフェニコール錠の崩壊試験法と溶出試験法について(厚生科学研究)

6) 安全性に関する研究

i) アスピリンおよびその製剤中の無水アスピリンの検出、定量法の確立と市販品の実態調査について

7) 麻薬および習慣性薬物に関する研究

i) 幻覚剤に関する研究(第5報) Psilocybin の合成〔衛生試報, 92, 41 (1974)〕

ii) 幻覚剤に関する研究(第6報) Δ^8 a,10a-Tetrahydrocannabinol の合成〔衛生試報, 92, 44 (1974)〕

iii) 幻覚剤に関する研究(第7報) Parahexyl の合

成〔衛生試報, 92, 46 (1974)〕

iv) 幻覚剤に関する研究 (第8報) DMHP の合成
〔衛生試報, 92, 50 (1974)〕

8) あへんおよびケシ属植物に関する研究

i) ケシの直接抽出に関する研究 (第1報)

栽植密度が生育・収量におよぼす影響〔衛生試報,
92, 32 (1974)〕

生 物 化 学 部

部 長 川 村 次 良

概要 昭和50年1月15日付で西崎笹夫酵素室長が退職され、同日部長が事務取扱いに併任された。なお、昭和50年2月から2カ月間 スリランカ 国から研修生1名を受け入れ、アミノ酸分析を主体に研修を行なった。

業務成績

1) 国家検定 インシュリン製剤101件および脳下垂体後葉製剤など36件について検定を行なったが、いずれも合格品であった。なお、昭和49年8月21日付で検定品目のフェリプレシン注射液に塩酸プロカインを含むものが追加指定された。

2) 特別審査試験 ホルモン関係製剤、合成ペプチド関係製剤など7件について審査した。releasing hormone のような長期間にわたって検定する必要のあるものが目立ち、一方、臓器などからの抽出製剤に関する規格設定については、慎重に再考する時期にあると考えられる。

3) 一斉収去試験 アデノシン三リン酸含有注射液19件について試験を行なったが、特に問題点はなかった。

4) 特行試験 国家検定の追加品目について試験規格設定のための試験を行なった。

5) 依頼試験 塩酸チアミン標準液2件。

6) 標準品製造 昭和49年度の標準品製造品目および出納状況などについては、巻末の表を参照された。なお、日本薬局方収載の標準品を主体に考えて製造を行なっているが、諸般の事情から交付が若干遅延している品目のあることを了承願いたい。

研究業績

1) 生体内活性物質の作用機序に関する研究

ニューロフィジン (Nph) のオキシトシン、パソプレシンに対する結合部位および結合様式を検索するため、子宮から抽出精製した Nph I および Nph II の光酸化および化学的修飾によるホルモンの結合能

への影響を調べた (→学会発表 57)。

2) 医薬品の溶出速度に関する研究

i) 前年度に引き続き、トルブタミド錠について、家兎に投与した場合の血中濃度をガスクロマトグラフ法によって定量し、生物学的に求めた血糖量の変化との相関性を検定した。その結果、両者の間に極めて高い相関性のあることを認めたので、溶出速度と血中濃度および血糖量の相関についても検討した (厚生科学研究)。

ii) ジギタリス配糖体含有製剤中、特にジゴキシン錠をウサギに投与し、radioimmunoassay を用いてその血中濃度を定量する方法などについて基礎的検討を行なった。〔原子力研究費, 衛生試報, 93, 61 (1975)〕

3) ヘパリンの比較生化学的研究

起原の異なるヘパリン製剤の抗凝血作用および物理化学的性質を比較検討した (→誌上発表 49)。

4) 標準品の品質規格に関する研究

強心配糖体含有製剤中の不純物であるギトキシンの標準品を製造するにあたり、国際標準品を始め各国薬局方標準品につき、高速液体クロマトグラフ法と日本薬局方のけい光光度法による定量法を用いて比較検討を行なった。その結果、けい光光度法による定量では、ギトキシンのけい光物質も定量していることがわかった (→学会発表 59)。

5) ステロイド含有軟膏製剤の定量法に関する研究 (特別研究)

前年度に引き続き、ステロイド含有軟膏製剤の定量法を作成するため、軟膏基剤の溶解性などについて検討を行ない、溶媒抽出や高速液体クロマトグラフ法による分離定量に必要な基礎実験を行なった。また、従来の理化学的方法に比べて基質特異性が高いと考えられる酵素反応を適用した定量法の基礎的検討を行なった (→学会発表 58)。

放 射 線 化 学 部

部 長 浦 久 保 五 郎

概要 RI 使用施設は過去において何度か拡張して来たが、排水施設がまだ不充分であった。しかしようやく予算が認められ、容量のはるかに大きい排水貯留槽が完成したので、従来よりは大量の RI が使用可能となった。

また RI 使用による障害防止のために従来から当所において制定されていた障害予防規定が、業務の拡大のために実情に合わなくなって来ていたので、新しい

視野のもとに改定を行ない、本年4月から施行した。現在当所におけるRI作業従事者は30名以上にのぼっている。これらの人に対するRI障害予防のための教育訓練も、従来と比し若干の改革を加え定期的に行なうこととしている。

業務成績

1) 放射性医薬品の特別審査試験

下記の品目について、必要な化学試験と書類の審査を行った。

ザリルガン-203 (^{203}Hg)、クロルメロドリン-Hg 197 注射液 (^{197}Hg)、T-3リアキット (^{125}I)、TSH (ヒト甲状腺刺激ホルモン) キット (^{125}I)、HCS (ヒト絨毛性ソマトマンモトロピン) キット (^{125}I)、ビタミン B_{12} キット (^{57}Co)、アルブミンマイクロスフェア $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ラベリングキット、レニン活性測定キット (^{125}I)、ガストリン・I-125・キット (^{125}I)。

2) 放射性医薬品基準の追加

薬務局で行なっている基準の改正ならびに追加のために、必要な基礎資料の提供を数回行なった。

研究業績

1) キノホルムに関する研究

キノホルムおよび 5-chloro-8-quinolinol を連続投与したイスについて、組織中の金属濃度の分析を行ない、キノホルム投与群のイスの坐骨神経中の亜鉛含量が有意に高いことを知った。

またキノホルムと亜鉛のキレート剤の安定性について実験を行ない、このキレートが 5-chloro-8-quinolinol などと亜鉛キレートよりも安定であることを知った。それでキノホルムがキレート剤であってその金属キレートが安定であることがスモンの病因と関係していると推論された。

本研究は厚生省特殊疾病研究スモン班の研究として行なった。(一誌上発表 52)

2) マンガン (^{54}Mn) の胎仔移行と胎仔内分布について。

妊娠ラットについて、妊娠10日目、13日目、17日目または19日目に $^{54}\text{MnCl}_2$ 溶液を静注し、妊娠20日目に解剖して母体および胎仔内臓器中の ^{54}Mn 量を測定し、マンガンの胎仔移行と胎仔内分布を検討した。

その結果、母体に摂取されたマンガンは胎盤を通して胎仔に移行し、胎仔内に分布するが、分布の状態は妊娠中の時期によって異なり、また母体と胎仔では高濃度に分布する臓器も異なるという結果が得られた。(薬理部と共同研究、厚生省に報告)

3) セレン中毒と貧血の関係について

セレン中毒の動物においては貧血が知られている。

本年度はセレン貧血ラットにおけるシアノコバラミンおよび葉酸の関与について研究した。すなわちセレン連続投与ラットにおける $^{57}\text{Co-VB}_{12}$ および $^{57}\text{CoCl}_2$ の臓内取り込み、また葉酸とセレンのメチル化との関係について検討した。

セレン化合物を連続経口投与し、ヘマトクリット値により貧血であることを確認したラットについて、 $^{57}\text{Co-VB}_{12}$ を投与した場合は、血清中の放射能濃度は対照群にくらべ低下し、また血清中の VB_{12} の定量では、対照群にくらべ、亜セレン酸ナトリウム群およびセレン酸ナトリウム群とも増加する傾向を示し、また、 ^{14}C -セリンおよび ^{14}C -メチル葉酸から ^{14}C -メチオニン生成量が対照群に比べてセレン投与群では低下し、メチル化の率がセレン投与で低下することが示された。

本研究は原子力研究費により行なった。

4) $^{14}\text{CCl}_4$ のラットにおける分布、排泄に関する研究

ラットに $^{14}\text{CCl}_4$ を経口投与すると、12時間に $^{14}\text{CO}_2$ として 20~27% が、また未変化体を含む揮発性、トルエン可溶性代謝物として 50~60% が呼気中に排泄される。

投与3時間後に投与量の3.3%の最高分布率を示す肝臓のほか、腎臓、腸間膜以外は ^{14}C 分布率は極めて低く、均一に生体内に分布する。

投与量の約2.8%が24時間内に尿中に排泄される。尿中代謝物中には揮発性物質や炭酸塩は全く含まれていない。尿を分画すると、代謝産物はほぼ100%が水溶性分画に移行する。24時間尿に尿素を加えて同位体希釈分析法により $^{14}\text{C-urea}$ を定量した結果、尿中放射能の22.7% (投与量の0.12%) が尿素として排泄されていることが明らかとなった。

本研究は科学技術庁特調研究費により行なった。

5) Radioimmunoassay による 2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine (STP, DOM) の定量に関する研究

DOM の radioimmunoassay の感度および精度を高め、測定方法を容易にする目的で ^{125}I で標識した DOM を合成し、血清中 DOM の radioimmunoassay による微量定量法を検討した。(一学会発表 56, 誌上発表 43)

放射能標識 DOM の合成は、succinyl-DOM-tyrosine methylester を合成し、 ^{125}I で標識を行なった。radioimmunoassay の感度は比放射能の高い ^{125}I -DOM を用いることにより従来の ^3H -DOM を用いた radioimmunoassay より1桁高くなった。DOM に対する特異性の高い抗体が得られたことにより ng レベルで

の DOM の radioimmunoassay が可能になった。また抗体の結合部位についても詳細な検討を行なった。

本研究は原子力研究費により行なった。

6) ^{210}Pb の体内分布、排泄について

鉛の生体内の挙動を見るために ^{210}Pb をラットに投与して、 ^{210}Pb の生体内分布および生物学的半減期についての検討を行なった。

この結果、 ^{210}Pb の排泄は糞中に多く 92 日間で投与量の約 55% を、また尿中へは約 6.1% がそれぞれ排泄されることが明らかとなった。

生物学的半減期は、連日の排泄率から計算したところ、約 170 日という値が得られた。

^{210}Pb は生体内中で骨に多く蓄積され、次に骨髄に多い結果を得た。一方中枢神経の各臓器においても比較的高い蓄積を認めた。さらに軟組織では腎>肝>脾>筋肉の順に分布していることが明らかになった。

(→学会発表 60)

7) 放射性医薬品の γ 線スペクトルについて

放射性医薬品基準の作成に必要な核種の γ 線スペクトルを、新しく購入した Ge(Li) デテクターを用いて測定した。その結果数種の RI について、きわめて分解能のよいスペクトルが得られた。

8) 環境試料中の天然放射性核種の分析に関する研究

前年度に引続き、水道水、井水、雨水中の ^{226}Ra および ^{210}Pb の分析を行なった。この結果、東京における水道水、井水中には ^{226}Ra および ^{210}Pb を殆んど含まないが、雨水中には、かなりの ^{210}Pb ($1\sim 2\text{ pCi/l}$) が含まれていることを知った。なおその他の試料(例えば陸産食品)については、現在その分析を続行中である。本研究は放射能調査研究費によって行なった。

(→学会発表 55, 誌上発表 44, 45, 46)

生 薬 部

部 長 名 取 信 策

概要 昨年 3 月改修工事が完了した 2 号館 3 階(旧講堂および図書室)へ移転し、整備のために多大の労力をさいしたが、次第に落着いて業務を再開した。

1964 年以来協力を続けているタイ国薬用資源研究計画は following up の段階にはいっているが、本年度は佐竹技官が 10~11 月派遣され、植物調査に協力した。目下、他の医療協力の計画実施との関連において、この援助をどのようなかたちで完了させるか計画待ちである。

医薬品の品質管理が厳密になるにつれ、生薬およびその製剤についても多くの問題があるが、本年度は来年 3 月を目標としている第 9 改正日本薬局方の改定作業に協力を行った。

11 月に義平第 2 室長が、米国 NIH へ 1 年間の予定で出張した。

業務成績

1) 本年度は一斉取締試験、特行試験等は該当品目がなかった。

2) 特別審査 従来通り製剤に配合された生薬の試験を中心に審査を行った。

研究業績

1) 生薬および生薬製剤の規格・試験法の研究：繁用される生薬のうち問題のあるものを中心として研究を続けているが、本年度は局方改正との関連から、灰分測定法、朮、柴胡麻黄(定量法)等について研究を行った。

2) 東洋薬物の基原・形態・利用等に関する研究：1974 年 10~11 月佐竹技官がタイ薬用資源研究計画の専門家として、植物調査を行ったので、その標本について研究した。また従来のタイ生薬・薬用植物の調査研究の結果をまとめリストを作成して出版した (Reports on Thai Medicinal Plants Research Project, 1971-1973, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand)

3) 主要薬用植物の原種(純系)の研究：数種の薬用植物について薬培養を試みてきているが、脱分化および再分化の条件について検討を行い、再分化によって得られた植物体を畑地に移して開花に成功したオウレン (*Coptis japonica*) については、その花その他の形態研究を行った (→学会発表 140)。

4) 医薬資源植物調査

5) 医薬的利用を目標とした植物成分の分離・構造に関する研究：従来の研究の整理 (→誌上発表 9, 12, 13)

6) 栽培植物の資源的評価・成分分析：栽培試験場の研究に協力した。

7) 天然有害物質の化学的研究(文部省および厚生省がん特研による)(衛生微生物部・東大医科研と共同研究)

i) マイコトキシンの化学的研究：*Chaetomium globosum* から新たに分離された細胞毒性物質 chaetoglobosin D, E, F の構造について研究を進め (→学会発表 137)、一方 *Aspergillus candidus* の toxin A と、関連した E の構造を決定し (→学会発表 139)、B の構造、A, B の毒性についてさらに研究中である

(誌上発表 11)。

ii) フラビの発がん性物質の研究：フラビの成分については地上部のほか根茎部についても一通りの検索を完了し、その結果としてえられた約 30 種の 1-indanone 誘導体については絶対構造の決定 CD による conformation の解析も行った (一学会発表 138, 誌上発表 10)。一方引き続き発がん実験も行なわれているが、抽出物については明確な結果は今のところ得られておらず、他の生物試験法を広く導入して本態を明らかにすべく、さらに研究続行中である。

療 品 部

部 長 大 場 琢 磨

概要 療品部は現在療品室、理化学試験室、家庭用品第一室および同第二室の 4 室があり、昭和 49 年 7 月に家庭用品第一室に 1 名並びに同第 2 室に 3 名が増員された。昭和 49 年 9 月 26 日付厚生省令第 34 号により 5 品目の試験方法を含む施行規則が公布されて、衣類に含まれるホルムアルデヒドを初めとする家庭用品に含有される有害物質の規制が具体的に始められた。予算規模としても当所に依頼される試験検査費は約 1 億 3 千万円という巨額なものとなっている。

医療用塩化ビニル樹脂から溶出するフタル酸エステルの安全性については一昨年、昨年に引続いて医療助成研究補助金を受けて乳化液および原液の静注後の肺の病理組織学的所見並びに人工腎臓血液回路からの溶出量について、薬品病理部、医化学部、薬理部などと共同して研究を行なった。本研究は 3 カ年間続け多大の成果をおさめたが、一応これで終了となった。

昭和 49 年度から 3 カ年にわたり 科学技術庁の特別研究促進調整費による人工臓器の生体適合性に関するプロジェクト研究に参加することになった。大別して人工臓器材料研究班、装置工学研究班及び生理学的研究班の 3 つの班からなり 49 年度予算は 3,500 万円であった。人工臓器材料研究班の班長に小職が選ばれ、当所から大森部長、小田嶋部長、栗栖主任研究官、辻室長が加わり、これに東京医科歯科大学医用材料研究所長増原教授、筑波大学添田助教授、繊維高分子材料研究所津田室長が参加し、人工臓器材料の生体適合性の問題点を追及し、その品質基準設定のための評価方法を作ることを目標とした総合研究が始められた。これは当所の中では規模として出来なかった仕事で科学技術庁の援助で外部へ大きく踏み出したもので、意義深いことである。

人事移動としては、49 年 4 月 1 日付で辞任した伊東、堀部両室長の後任には環境衛生化学部から辻楠雄技官が療品室長に、また合成化学研究部から中村晃忠技官が家庭用品第 1 室長にそれぞれ昇任した。

業務成績

1) 基準作成

現在「人工腎臓装置基準」の案がほとんど出来上り見直しの段階である。この内容である透析器、透析回路、血管短絡用留置カニューレおよび留置針の試験法の基礎データ作りが業務となっている。なお薬理部、衛生微生物部も参加している。

2) 家庭用品の試験検査

49 年度の新しい試験品目は防炎加工剤、防虫加工剤各 1 品目、柔軟剤 5 品目、撥水剤 2 品目および可塑剤 3 品目の合計 12 品目で、このうち当所では全品目の急性毒性と 3 品目の慢性毒性、経皮発がん試験を担当し、他の各種試験は信州大学など 10 カ所へ、48 年度継続の試験も東京女子医大など 8 カ所へ委託した。49 年度から分析試験が新たに加えられ静岡大学など 2 カ所に委託した。

分析試験法のうちホルムアルデヒド、有機水銀化合物、塩化ビニルモノマーについては新たにこれを設定し、トイレ洗浄用の塩化水素および硫酸並びにその容器の試験法と共に 49 年 9 月に基準として告示した。

3) 一斉取締試験

49 年度は行なわなかった。

4) 輸出検査

腸線縫合糸の輸出検査は昭和 49 年度は 33 件あり、不適はなかった。

5) 特行試験

月経処理用タンポン基準改正は必要な脱落物質試験法の検討および採血用器具の手引試験管の溶出試験を行った。

6) 理化学試験室の業務

昭和 49 年度は質量分析装置のミニコンピュータ (950 万円) が購入され、その利用価値が一段とあがった。9 月から共通機器室の機器の一部を新館一階に移し、家庭用品第一室が入った。

研究業務

1) フタル酸エステルの安全性に関する研究

概要で記したように当部では塩化ビニル樹脂製の人工腎臓血液回路は血漿液を 37° で循環させたときに溶出する DEHP の量を 1~8 時間にわたってガスクロマトグラフィーにより定量した。また約 200 匹のラットを用い、DEHP の原液静注と乳化液静注を行ない、30 日間にわたり 5 匹づつ解剖した。解剖所見は薬品病理

部に依頼した結果並びにオートラジオグラフィーの結果からみて、乳化液を静注したときには DEHP は肺に蓄積しないことがわかった。（医療助成研究，科学審議官室へ報告）

2) 人工臓器材料の生体組織に及ぼす影響

49年度は人工臓器材料に多用されている PVC，50年度は親水性ポリマー，51年度は疎水性ポリマーをとりあげる予定である。49年度は PVC から各種条件で溶出する配合剤の比較検討を行なった。

3) 塩化ビニル樹脂中のモノマーのガスクロマトグラフィーによる定量分析に関する研究

内部標準物質として *n*-ペンタンを用い，吸着 GC および分配 GC の両方を検討し，これらを取り入れた定量法を作製した。（薬務局行政研究，食品添加物と共同研究）

4) 医療用ゴムの品質確保に関する研究

輸液びん用ゴムせん，輸液セット用ゴム管などの試験の検討を行ない，加硫促進剤の溶出と紫外吸収との関連並びに重金属の原子吸光による定量を行ない，同時に局方一般試験法案の基礎データを作った。（厚生科学研究，薬務局へ報告）

5) 家庭用品の安全性に関する研究

(i) 衣類等に含まれる化学物質の分析化学的研究
衣類中の遊離ホルムアルデヒドの溶出と定量条件を検討し，市販品の試験を行なった。また衣類中の有機水銀および総水銀の定量方法を検討，市販品の調査を行なった。現在有機塩素剤等の分析法について検討を行なっている。（→学会発表 49，誌上発表 48）

(ii) 衣類等に含まれる化学物質の生物学的研究
ホルムアルデヒドの飲水による慢性毒性に関する研究，ミツチン FF の慢性毒性に関する研究を初めとする防炎，防虫，柔軟，蛍光増白剤等について慢性毒性および経皮発がん性の研究を行なっている。（環境衛生局家庭用品安全対策室へ報告，→学会発表 111）

6) 質量分析法における高速磁場掃引と分解能の関係，製剤分析への応用およびガスマスにおけるバックグラウンド信号の除去法に関する研究

7) ^{13}C -核磁気スペクトル法の化学シフトの測定並びにその量子化学論的解釈に関する研究（→学会発表 13～16）

環境衛生化学部

部長 外村 正 治

概要 昭和49年4月に 当部の人事異動があった。狩

野主任研究官が第2室長となり，木嶋主任研究官を当部へ迎え，辻主任研究官が療品部へ移つり，小幡第2室長が退官した。

業務成績

1) 一斉取締試験 エアゾール式ヘアラッカーのメタノール，ガス成分および鉛の試験を279検体について行なった。

2) 特別行政試験

i) 国立衛生試験所環境汚染調査 昭和46年から，月1回，試験室総合排水，付属宿舍し尿浄化槽排水等3か所で採水し，試験を行っているが，昭和49年11月，当所が水質汚濁防止法による特定施設となったので，法による試験を行なう必要が生じた。従来水温，気温，pH，蒸発残留物，可溶性物質，浮遊物質，*n*-ヘキサン抽出物質，BOD，COD に加えてフェノール類，銅，亜鉛，鉄，マンガン，クロム，弗素（以上生活環境の保全のための項目）ならびにカドミウム，シアン，有機燐，鉛，6価クロム，砒素総水銀およびアルキル水銀（以上人の健康の保護のための項目）についての試験を行なっている。（総務部会計課へ報告）

ii) 皇居外苑濠水調査 水利用の研究の一環ともなっている調査で，年4回季別に行っている。皇居外苑の日比谷堀，桜田堀，牛ヶ淵等9地点で採水し，現地試験も併行して約15項目について試験を行った。（環境庁自然保護局へ報告）

iii) 皇居内苑の井水，土壌および濠水調査 宮内庁の依頼で，吹上御苑，紅葉山等5地点の井水，田甫の土壌と水，吹上御苑大池，上中下道灌堀等10地点の濠水等17試料について水質物20項目，土壌の項目の試験を行った。（宮内庁管理部へ報告）

iv) 厚生省庁舎水道水質調査，厚生省庁舎の水道水槽，高架タンク，給水栓等より8試料を採取し，各24項目の試験を行なった。（官房会計課へ報告）

v) モルガンボマード中の鉛，ビスマスについて24検体について検査した。（薬務局へ報告）

3) 調査業務

i) 国立衛生試験所環境汚染調査

ii) 皇居内苑の井水，土壌および濠水調査

iii) 厚生省庁舎水道水質調査

iv) 在日米軍基地排水調査，立川米軍基地の排水等について pH，RpH，透視度，色相，臭気，生物相，流量，DO，BOD，COD，鉛，カドミウム，*n*-ヘキサン抽出物，一般細菌数，大腸菌群等の調査を行なった。（環境庁水質保全局へ報告）なお，横須賀基地については，環境条件調査，採水ならびに採泥に当って協力した。

v) 大気汚染調査，環境庁の依頼により霞が関，板

橋および新宿御苑で自動測定記録計による調査を前年度に引続いて行なった。(環境庁大気保全局へ報告, 一学会発表 44) [大気汚染研究, 9, 489 (1974)]

vi) つけまつげ用接着剤の調査, ホルムアルデヒドの検出に関して, 市販品の調査を行なった。(薬務局ならびに日本化粧品工業連合会へ報告)

vii) コールドパーマネントウェーブ用剤の調査, 前年度に引続いて, シアンイオンの試験に関する種々の調査を行って, 薬務局へ随時連絡した。

研究業績

1) 水道水質の基準の設定に関する研究

i) 水道水の標準分析法の開発に関する研究 昭和47年度より引続いて行なっているもので, 水質基準の追加, 改定作業についての水質成分分析法確立のための研究で, 東大薬学部ほか7薬系大学と共同して作業している。前年度に引続いて有機リン系, 有機塩素系農薬, ニッケル, ポリアクリルアミド等の分析法を確立し, さらに, トリクロロエチレン等の有機塩素系化合物, シアン, フェノール等の分析法の研究を行なう。(厚生省水質試験検査費, 水道環境部へ報告)

ii) セレン関連化合物の衛生化学的研究 水道水の安全性保持のため, セレンの生体作用機構の研究であって, セレン酸ナトリウムの臓器における代謝について行なった。(一学会発表 65)

iii) 高分子凝集剤の分析法に関する研究 ポリアクリルアミド系高分子凝集剤の分析法の確立を目的としガスクロマトグラフ法を中心として続行中である。

iv) 塩化ビニル樹脂製水道管からの塩化ビニルの溶出に関する研究 塩化ビニル水道管からの塩化ビニルモノマーの溶出の実態を把握し, 水道水質基準の設定に資する。

2) 水利用ならびに排水に関する研究

i) 陸水の浄化に関する研究 皇居外苑溜水の浄化法の確立, 災害時の溜水利用の目的で, 溜水の富栄養化阻止のための底出成分の溶出と水質成分の関連性等について研究を行なっている。(一学会発表 18)

ii) 地盤凝固剤の地下水汚染防止に関する研究 地盤凝固剤として使用されるアクリルアミドモノマーの地下水中の微量分析をガスクロマトグラフ法によって分析する方法を確立した。(一学会報告 19, 厚生省水道環境部へ報告)

iii) 銀担持活性炭を用いた浄水器に関する研究 浄水器から溶出する銀の溶出速度, 溶出の経時変化ならびに銀のヒト皮膚細胞に対する染色体異常について研究した。(厚生省食品化学課へ報告)

3) 有害性金属の衛生化学的研究

i) 有害性金属の生体運命に関する研究 水道水中にふくまれる微量金属とくにカドミウムについて生体吸収, 蓄積, また, 連続経口投与時のカルシウム代謝等について, 前年度より引続いた研究を行なった。

(一学会発表 66, 衛生化学投稿中)

ii) 生活環境における化学的発がん因子に関する研究 重金属特にセレン化合物ならびに有機塩素化合物の動物細胞への影響, 染色体異常について研究を前年度に引続いて行なっている。(がん研究助成金, Mutation Research へ投稿中)

4) 毒物劇物廃棄処理方法に関する研究 毒劇物の廃棄時の安全処理基準の作成のための研究で, メチルプロマイドについて行なった。(厚生省薬務局へ報告)

5) 環境空気の衛生化学的研究

i) 環境空気中の汚染物質の分析法に関する研究, アクロレインの測定法を確立した。[大気汚染研究 9, 205 (1974)]

6) 化粧品に関する研究

i) ヘアダイ製品の試験法の研究 自主規格である「染毛剤原料規格」の作成に協力し, 完成した。(厚生省薬務局へ資料提供)

ii) コールドパーマネントウェーブ用剤の試験法の研究 製品内容の変転にともなう基準改正のための試験法を研究している。(厚生省薬務局審査課に資料提出)

iii) チオグリコール酸の定量法の研究 除毛クリーム中のチオグリコール酸カルシウムの定量法を確立した。(薬学会衛生調査会へ報告)

iv) 化粧品原料の試験法の研究 化粧品原料基準の追加, 改正に必要な試験研究を行なっている。特に純度試験の見なおしを行なった。(厚生省薬務局審査課へ資料提出)

v) 化粧品ならびに化粧品原料の高速液体クロマトグラフィーによる分析法の研究 複雑な化粧品成分の分析に高速液体クロマトグラフ法を応用する研究を行なっている。ホルモン剤, 防腐殺菌剤, 紫外線吸収剤等について行ない, さらにビタミン剤, 化粧品用原料色素について研究している。(一学会発表 37~42)

食 品 部

部長 内 山 充

概要 昭和49年5月1日付で内山 充が部長として着任, 同12月1日付で斎藤行生技官が採用された。部長交替に伴い, 研究面では方針の変更された点もあ

るが、業務についてはほぼ従来通りであった。年度後半に、瀬戸内海重油流失事故に端を発した海産食品の重油汚染問題が起り、また50年度初頭にまたがって輸入かんきつ類の不許可防ばい剤の行政試験が行われるなど、いくつかの社会問題が起り、部内もそれに対応する体制をとった。

業務成績

輸入食品検査：49年度は、許可外添加物スルファミン酸使用のしょうがを保税加工（水洗）したものについての再試験、クロスチェックのための特殊検体など化学検査総検体数21のうち、不可5検体、判定なし2検体の成績であった。また異物検査は総検体数17、うち要注意8、不可0であった。

特許試験：残留農薬許容基準設定のため、実態調査が49年度も最も大きい業務で、梅の実、ブロッコリー、ふき、冬瓜、紫キャベツ、山芋、金時豆、大福豆およびてんさいの9農作物につき、生産地並びに市場より114検体が送付され、主として有機塩素系農薬の残留実態調査を行なった。

研究業績

1) 食品中の残留農薬の化学分析法の改良と開発に関する研究

将来における残留農薬試験法設定のための基礎資料、あるいは実態調査に際しての試験法改良のための事前検討の意味を以て、以下の研究を行なった。

i) 有機リン系農薬の百分分析

29種類の有機リン系農薬を同時に分析しうる FPD ガスクロマトグラフの操作条件を検討した。（→学会発表 25）

ii) 抗生物質農薬の化学分析

抗生物質は食品中に「残留してはならない」とされているが、分析法が極めて不備である。本年はカサガイシンの分析法について検討した。

iii) 農作物の tetrachloroisophthalonitrile (ダコニール) の分析法

野菜、果実よりのダコニールのクリーンアップおよび FCD ガスクロマトグラフィーによる定量、ベンゼンとの付加物の検討など。〔衛生試報 93, 41 (1975), →学会発表 26〕

iv) ジチオカーバメート系農薬の分析

CS₂ およびエチレンジアミンに分解後それぞれを定量する方法を検討中である。

v) 有機リン系農薬の食品中よりの抽出と分離法の比較検討：特に DDVP およびジスルホトンを含む試料について検討した。（J. Am. Official Anal. Chem. 投稿中）

vi) 有機リン剤の酸化代謝物の分析

P=O 体、チオエーテルのスルホキシド、スルホンについてエチルチオメトン等を用いて分析法を検討した。

vii) キャプタンおよびキャプタホルの分析法について（J. am. Official Anal. Chem. 投稿中）

2) カルバメート農薬の微生物代謝の経路特異性の解明

BPMCの各種カビによる代謝能の比較および極性代謝物の追求など（Chem. Pharm. Bull. 投稿中、→学会発表 122）

3) 農薬の生体影響の基礎的研究

i) N-メチルカルバメート農薬のニトロソ体の突然変異誘起能

8種の市販カルバメート剤のニトロソ体を緩和な方法で化学的に作り、微生物を用いたスクリーニングの結果極めて強い突然変異誘起性を見出した。（衛生微生物部と共同、Bull. Env. Contam. Tox. 14(4) 印刷中(1975), →学会発表 123）

ii) N-メチルカルバメート農薬の代謝物の抗コリンエステラーゼ作用

BPMC の主代謝物は原体に比し酵素阻害力がいずれも低下していた（衛生化学 投稿中）

4) PCT による食品および生体の汚染とその影響に関する研究

長期投与時におけるマウス体内蓄積、臓器分布を検討、同時に人体試料について他の塩素系汚染物との量関係を比較しつつ分析した。（一部毒性部と共同、衛生化学投稿中、→学会発表 67）

5) フタル酸エステル類の分析法の確立とその衛生化学的評価

油脂性食品中の DBP, DHP, DEHP, BPBG の分析に関して「水析法」および少量濃硫酸抽出法を応用して分析法を確立した。（環境衛生局へ報告、→学会発表 27）

6) 重油による汚染の化学指標の確立

魚介類中の *n*-パラフィンおよびベンゾ (a) ピレンの分析法を改良した。（環境衛生局へ報告、→学会発表 28）

7) 食品中の重金属の化学形態に関する研究

ヒ素およびカドミウムにつきタン白質との結合物形成の有無を平衡透析法で検討した。（環境衛生局へ報告）

8) 魚介類中のポリクロロジベンゾジオキシンの分析法について

オクタクロロ体の分析を、ガスクロマトグラフおよ

びマスフラグメントグラフィーを用いて行なう方法を確立 (衛生化学投稿中, 一学会発表 29)

9) トリメチルアミノオキサイドの還元分解によって生じる揮発性アミンに関する研究

r 線照射による魚肉ネリ製品の成分変動に関する予備研究として始められたものであるが, 揮発性アミンの簡易定量法の確立に成功し, さらに共存金属の影響などを明らかにし得た. (一学会発表 30)

10) 生体内脂質に関連した化学指標の測定とその変動の解明

TBA 値と DPPH 反応物質量を, 肝, 脳の細胞下画分別に測定し, 動物の年齢による相異などについても検討した.

11) 酸化防止剤 BHA の光分解に関する研究

ベンゼン中および油脂中における光分解について検討し, さらに分解物が原体に比して急性毒性が低下していることを確認した. (一誌上発表 5, 6)

12) カビ毒に関する食品衛生学的研究

マイコトキシンの化学分析法を改良, 開発して検査法の向上をはかり, さらに食品汚染の実態および対策を検討するための諸研究の基礎とするために以下の諸項目の研究を行なった. (衛生微生物部と共同)

i) 穀類中のステリグマトシステンの分析法について

ii) 食品中のオクラトキシン A およびチトリニンの分析法の改良研究

TLC での良好な溶媒系の設定, 蛍光増強剤の使用による感度上昇, 抽出クリーンアップ法の改良など. (環境衛生局へ報告)

iii) トリコセシン系マイコトキシンの簡易分析法の確立および生成条件の検討と標品の調製 (環境衛生局へ報告)

iv) 米穀中のマイコトキシン類の同時分析法の研究
発蛍光性の 7 種のマイコトキシンの抽出, カラム分画, TLC による同時分析について好結果を得た (都衛研, 食薬安全センターと共同, 環境衛生局に報告, 一学会発表 31)

v) 高速液体クロマトグラフィーによるマイコトキシンの分析

オクラトキシン A, チトリニン, ペニシリン酸の分析条件の検討, 特に組合わせ型 (送液部, カラム, 検出部別々に調達) 液体クロマトグラフィーの開発指導を副目的とした. (一学会発表 32)

13) 微細な重い食品異物の捕集に関する研究

特殊なガラス器を用い, 石英粉の行動等を研究 (薬学会衛生調査会へ報告)

14) コナダニ類に関する食品衛生的研究

i) 弱毒性常圧ガスによる殺ダニ法の研究

ii) カビとダニの共生およびダニのカビ嗜好性について

カビによるダニの誘引および増殖維持とダニによるカビの伝播等について研究した.

食品添加物部

部長 谷村 頭 雄

業務成績

1. 製品検査 (昭和 49 年 1 月～12 月)

食用色素: 検査件数 542, 合格 542, 不合格 0,

2. 特行試験

1) AF-2 の安全性に関する基礎実験

AF-2 は昭和 49 年 9 月食品添加物の指定が解除されたが, これに先立ちその安全性に関するつぎの実験を行なった. すなわち AF-2 を使用している魚肉ソーセージ工場の作業環境中に存在する AF-2 の実態調査および AF-2 の光, 熱, 酵素に対する安定性について検討した. 前者では AF-2 を各種食品添加物とともに魚肉ソーセージ原料に混和する工程において, 空気中最高 $17.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の AF-2 を検出した. 後者に関する実験のうち, 加熱 (100°C , 2.5 時間), 光照射によっては trans 体の 20～30% が cis 体となり, 別に微量の分解物の存在を TLC 上で検出した. 肝ホモジネートで 2 時間処理した場合には trans 体のほとんど 100% が cis 体となったが, 他に分解物と思われるスポットは検出されていない.

2) 食品添加物標準分析法の作製

食品に含まれる食品添加物の定量値はその食品の形態, 性状などにより大きく変動することが少なくないため, 行政処分の際にしばしばその信憑性が問題となる. このため信頼性のある標準分析法の作製を数年計画で開始した. 昭和 49 年度はサッカリンナトリウム, デヒドロ酢酸, 安息香酸など 8 品目について食品中の標準定量法を作製した. この方法は都道府県の各機関に通達されたのち, 若干の改良を経て公定法として告示される予定である.

3) 硬化油に混入した熱媒体分析法の作製

液状食用油に混入した熱媒体の分析法については昭和 48 年度より継続して検討を行ない, 昭和 49 年 12 月 4 日付厚生省告示第 339 号により公示された. ついでマーガリンなどの硬化油に含まれる熱媒体を対象とした分析法を作製しているが, 特に魚油を原料とする硬

化油では GLC 上の妨害ピークが多いため、この除去法について実験中である。

4) 洗浄剤の残留試験

昭和 48 年度より引き続き、野菜用洗浄剤を使用基準に従って使用した場合の、食品、食器への残留試験を実施した。AES は終了、LAS、AOS について新定量法を作製し、残留量を測定している。

5) 合成樹脂製器具、容器、おもちゃ、ゴム製品の衛生基準の作製

塩化ビニル樹脂中のフタル酸エステル、塩化ビニルモノマー、ポリオレフィン、ポリスチレン、ゴム製品(哺乳用乳首、おしゃぶりなど)についての基準を設けるための基礎データを作製した。(→学会発表 45, 47)

4. 標準品の製造

ファストアシッドマゲンダおよびブリリアントレーキレッドについて製造中である。

研究業績

1. ニトロソ化合物の生成に関する研究

1) クレアチン、グリコシアミンのニトロソ化の反応速度について

昨年度に引き続きクレアチンの亜硝酸ナトリウムによるニトロソ化反応速度について検討した。クレアチンはニトロソ化によりニトロソサルコシンを生成するが、ピベリジン、モルホリンのニトロソ化に比較するとかなり遅い。グリコシアミンは亜硝酸によりニトロソヒダントイン酸を生じるが、本反応については検討中である。(→誌上発表 7, 8)

2) カーバメイト系農薬のニトロソ化合物。

わが国で繁用されているカーバメイト系農薬三種をえらび、それぞれ対応するニトロソ化合物を合成し、その構造を決定した。それらについての突然変異誘発能について検討中である。

3) 唾液によるジメチルニトロソアミンの生成について

唾液を亜硝酸源および硝酸塩還元菌のソースとして、これをジメチルアミン、硝酸塩および培地に混和し、37° に保存したところ著量のジメチルニトロソアミンの生成を認めた。この場合唾液中の細菌は単に硝酸塩を還元するのみならず、ジメチルアミンのニトロソ化反応を促進するものと推定される。(→学会発表 64)

2. 硝酸塩、亜硝酸塩に関する研究

1) 唾液中の亜硝酸塩について

昭和 48 年度に引き続き硝酸塩を多量に含む食品を摂取した場合の唾液中の亜硝酸塩の消長について検討した結果、唾液中に検出される亜硝酸塩は、硝酸塩含

量の多い食品あるいは硝酸ナトリウムを摂取した場合に急激に増加することを認めた。しかし、この唾液を唾液腺から直接採取した場合には、亜硝酸塩は全く検出されず、食品中の亜硝酸塩が唾液腺からふたたび分泌されるという説は否定された。分泌された唾液を口内に貯留するとその亜硝酸量は増加するため、通常の唾液中に認められる亜硝酸塩は、唾液中の硝酸塩が口内細菌により還元されて生成したものであることが確認された。(→学会発表 61~63, 誌上発表 37~41)

2) 食品中の硝酸塩について

主として農産食品について、これに含まれる硝酸塩の定量を行なった。(→誌上発表 42)

3) カドミウム還元法による硝酸塩の定量法の検討

食品中の硝酸塩定量に最も適していると思われるカドミウム還元法に使用される除タン白剤を検討した結果、昇汞、酢酸ウラニル亜鉛に代り硫酸亜鉛、カリウム明バンが適当であることが明かとなった。

3. 着色料に関する研究

1) 食用着色 3 号 (エリスロン) に混在する未反応中間体および分解物について検討した。(→学会発表 48)

2) 天然着色料の食品からの抽出分離、ろ紙および薄層クロマトグラフィーおよび高速液体クロマトグラフィーによる分析を行なった。

4. 食品中のサッカリン定量法の検討

特に醗酵食品の妨害物質による影響を除去する目的で、GLC および高速液体クロマトグラフィーによる定量法を作製した。(→誌上発表 29, 30)

5. おもちゃの安全性に関する研究

おもちゃからの着色料、フタル酸エステル、塩ビモノマーの溶出に関する基準を作製するための基礎的研究を行なった。(→学会発表 46)

衛生微生物部

部長 倉 田 浩

概要 部内の人事、機構、運営など昨年度に変わらないが、検定業務は医薬品、食品ともにやや増加がみられた。昨年度から初められた医薬品の微生物汚染の実態調査は酵素、臓器、生薬などの各種製剤を対象に進められた。一方、食品では食品添加物の有効性の再検討を目的とし、食肉製品、乳製品などに対するソルビン酸の効果を調べた。このほかの行政研究として重点的に実施する課題として、医療用具の微生物学的試験法の設定が新たにとりあげられた。このほか研究の特

色としてカビ毒、嫌気性菌、変異原物質の微生物を用いる検索などがグループ研究として活発なうごきを見せている。特に AF₂ の変異原性に関して注目すべき成果をあげた。

業務成績

1) 国家検定

ブドウ糖、リンゲル、インシュリンなどの注射剤の1,181件について無菌試験を行った。避妊薬の殺精子試験を55件実施したが、いずれも不合格品はなかった。

2) 一斉取締試験

点眼剤、点鼻点耳剤、ATP注射液など計173件の微生物試験を行った。

3) 輸入食品検査

主として冷凍家禽肉類、印類、魚介類、など1,166件を行ったが、サルモネラ、大腸菌、および一般細菌を対象とする不合格率は15%であった。

研究業績

1. 医薬品および化粧品等の微生物汚染防止に関する研究

医薬品の汚染菌類の限度基準を設定する目的の調査研究で、本年度は主として動植物原料の製剤83点を供試し微生物試験を行ったが、特に生薬原料の製剤にはg当り10⁶以上の高度に汚染されているものが多かったが、酵素製剤は極めて低い汚染度であった。これらの特定菌については同定中である。(→誌上発表94, 97)

2. 微生物を用いる変異原性の検定に関する研究

宿主経路法を中心に、各種微生物を用いる Rec-assay, mutation test などが広く採用され、主として AF₂ に関する研究が進められ、この変異原性を実証した。このほか、キサンチン色素、(transforming DNA の不活化法)、既知の癌原物質である N-ニトロソ化合物類 (back mutation)、また農薬のニトロソカルバメイト類などについてスクリーニングが行われた。(→学会発表 87, 123, 128, 134, 135)

3. 医療用具の微生物試験に関する研究

本年はディスポーサブルな人工腎臓の特に透析部の無菌試験法の検討を行い試験法を提案した。今後、各種の人工腎臓器について試験法を確立すべく研究を進める。

4. 食品の細菌学的検査法の開発に関する研究

食品由来の大腸菌群、サルモネラ菌の発育至適温度の詳細を温度勾配培養槽を用いて検討したところ、前者は中温性を示し、後者は *Salmonella typhimurium* が他の type のものより全般に高温域で発育することなどを確かめた。(→学会発表 132, 誌上発表 96)

5. 細菌性食中毒の生態に関する研究

輸入食肉由来のサルモネラ菌および *E. coli* の各種抗生物質耐性菌の分布を調べたところ鶏肉由来の菌種に高度な耐性を示すものが検出され、それらが因子による伝達性を示す菌株と認められた。(→学会発表 133)

S. typhimurium の起病性の差が菌の形態的性質のうち、綿毛性に関係するものかどうかを検討したところ、綿毛性のある株が Virulence がやや高いものとみられた。腸管内壁に対する定着性が高まるためと考えられた。

6. 食品の安全性に関する微生物学的研究

(1) 食品添加物の使用基準の再点検 ソルビン酸などの保存料を中心とし、本年は、豆腐、清涼飲料水、魚肉ソーセージ、あん類(以上当部担当)などの使用効果を再検討したが、豆腐、練あん以外では低温流通(15°C以下)機構に併用すれば有効であり、清涼飲料水については安息香酸、パラオキシン安息香酸の代替保存料としてソルビン酸の効果が認められた。

(2) 腸管内の微生物による食品添加物の代謝に関する研究 サイクラメイト投与のモルモットの腸管内微生物叢の変動について、特に嫌気性菌群の動行を詳細に調べたところ、サルモネラの飼料を与えたモルモット群に *Bacteroidaceae* および *Clostridium* の検出率が明らかに高く、これに反し、モルモットの飼料投与群では両菌が減少する傾向がみられた。(→学会発表 125~127)

(3) 発がん性物質に対する腸管内微生物の反応 N-OH-アセチルアミノフローレンとアフラトキシン B₁ 投与ラットの微生物学的検索では明らかに投与動物において、*Bifidobacteria* が消失し、*Clostridia* が増加する傾向をみとめた。(→学会発表 124, 127)

(4) 食品中の有害真菌に関する研究

各食品ならびにその原料中の糸状菌の分布、汚染状況の調査が国内(長崎市富江町)ならびに東南アジア原住民の常用食品を対象として行われ、発がん性カビ毒産生菌の分布とヒト肝がん発症率との相関について検討を行った。一方輸入農産物、特に落花生の菌学的な調査を主として検出 *Fusarium* 菌のトリコテセン系マイコキシンの産生性を検討した。また日本列島の土壌中より検出された *Aspergillus flavus* のアフラトキシン産生能についても調査した。国内にも広く重要な発がん性マイコキシンの産生株が分布することが次第に明らかにされてきた。(→学会発表 130, 131, 136, 誌上発表 80)

(5) 医真菌に関する研究

主として人の皮膚および耳鼻科領域の患部より分離された真菌の同定を行い、爪などから植物病原真菌の *Helminthosporium*, *Alternaria* などが検出されている。(→誌上発表 95)

(6) 真菌に関する研究

真菌の分類と同定基準を目的とする研究であるが、本年は不整子の菌類と核菌類および不完全菌の一部、時に *Endophragmia* について、また先の核菌類中、*Microthecium Ciliatum*, *Dopfiella attenuate* の2種と *Anixiella*, *Gelasinospora*, など3種を新種として発表した。(→学会発表 129, 誌上発表 89~92)

薬 理 部

部 長 大 森 義 仁

概要 昭和44年以降漸減傾向のみられた検定件数は、49年度に於いて著しく増加したが、リンゲル液の検体のみは相変らずわずかながら前年に比べ減少を示した。

従来から継続してきている医薬品、食品添加物、医療用具の基材やその他の化学物質に関する安全性を重視した各種薬理試験研究にはとくに大きな変化はなかった。

本年度に於いては、小動物の行動検索用の弁別測定装置、デジタル分光光度計やソニケーターを新たに購入し、動物実験時における検体の調製、生体機能の生化学的ならびに生理的変動をより客観的な追及に資するための整備を行なった。

業務成績

ブドウ糖注射液 407 件、リンゲル液 19 件の発熱性物質試験を行なったが不適と判定されたものはなかった。

研究業務

1) 医薬品の薬理学的研究

i) 医薬品の相互作用に関する研究 医薬品の後世代に及ぼす影響の研究過程において各種プロゲステゲンや蛋白同化ステロイドによってラット胎児、新生児の雌に男性化が起こることを認め、さらにこの効果は合成エストロゲンの併用により増強されることをテストステロン誘導体とメストラノールの妊娠後半期母体への併用によって明らかにした。またラジオイムノアッセイを利用し、男性化発現動物のステロイドホルモンの血液レベルでの変動を検討するとともに、生殖器官の形態学的変化発生に対する薬物投与の臨界期の検索を行なった(原子力平和利用研究, →学会発表 80)。

ii) 医薬品ならびにプラスチック可塑剤の血液凝固に及ぼす影響に関する研究 注射薬と四頭股筋短縮症の発現との関連で、薬剤の理化学的性状のほかはその溶血性が問題視されるにおよび、解熱鎮痛薬、抗ヒスタミン薬、抗生物質2種の合計6製剤につき、シアノメトヘモグロビン法による溶血発現の強さについて比較検討した。また人工臓器材料各種をウサギ大動脈内に移植し3カ月にわたる血液組成や凝固能の変動に検討を加え、さらに塩ビ可塑剤として繁用されている2-エチルヘキシルフタレートの浮遊液を3カ月間静注し、主として血液凝固に及ぼす影響を観察した(医療助成研究, 科学技術庁委託研究)。

iii) 中枢アミン神経に対する各種化合物の簡便蛍光組織化学法による研究

中枢内アミン神経に対する化合物の影響を調べるために蛍光組織法を検討し、従来の方法では極めて複雑な操作を必要としたが、我々の設計した安価で簡便な凍結乾燥法を用い、従来の方法と何ら変らない結果の標本を得ることに成功し、この方法で2,3の精神安定剤、抗うつ剤を用い、皮質、尾状核、黒質、視床下部等の変化を観察しさらに神経細胞と中枢機能の関係について検討した。

2) 食品添加物ならびに金属等の生体内運命と後世代に及ぼす影響に関する研究

没食子酸プロピル、フロキシニンならびにサリチル酸をラット妊娠各期に投与し、主としてその経胎盤胎児移行と奇形発現との関連を検索した。またフリルフラマイドについても¹⁴C-標識化合物を用いて同様な研究を行なった(環境衛生局委託研究, →学会発表 82, 誌上発表 54)

塩化マンガン(⁵⁴Mn)を用い、妊娠中・後期のラットに静注し胎児および母体各臓組織への分布を検討するとともに硝酸鉛を雄ラットに与え体内分布と尿と糞の排泄についても検索を加えた(環境衛生局委託研究, →学会発表 84)。

さらに合成洗剤の一つ AES についても同様生体内運命に関する研究を行なった(科学技術庁委託研究)

3) 化学物質の発がん機序等に関する研究

アゾ色素で発がん性の証明されたボンソー-R の代謝生成物である2,4-キシリジンのラット肝がん発生と肝毒性発現との関与を検討する目的で核酸や蛋白質との結合性につき検討し、同様に各種アゾ色素の代謝的活性化、さらに2-アセチルアミノフルオレンのN-水酸化体とアフラトキシンやリトコール酸併用による発癌の変動についても研究を行なった(文部省がん研究, →学会発表 78, 81)。

また各種アゾ色素のN-水酸化活性にみられる種差、アルキルニトロソ尿素を用いて肝各種酵素活性に対する影響をも検討した(文部省がん研究、一学会発表 83, 85, 86)。

さらに医薬品の発がん性の早期発現に資する目的で、テストステロン誘導体とコルチゾンを経盤法により、または新生児期に微量ずつ数回投与し主として内分泌臓器の機能と形態に及ぼす影響を検討した(厚生省がん研究)。

毒 性 部

部長 池田良雄

概要 49年7月に、化学物質、および家庭用品に含まれる諸物質の毒性研究の要員として8名増員された。また50年度予算内示で安全センター(仮称)の庁舎設立のため約25億の予算が認められ、その基本設計作製のための原案作りに部全員が一体となって努力した。

相変わらず多数の業務を処理しなければならなかったが、49年度中において最も印象の深かったのはAF-2の研究で、同年の夏、同剤の変異原性をめぐって食品調査会で議論が沸騰している最中、当部におけるマウスでの実験で同剤が特異的に前胃の発癌性を持つことをみだしたことである。AF-2についての研究、とくに染色体に及ぼす影響に関する研究では、薬品病理部から多大の協力を得たことに対し感謝の意を表したい。

研究業績

1) 医薬品

i) 精神幻覚剤の依存性に関する研究(薬務局行政研究)

薬物乱用対策の一環としての研究であり、サイロシン、LSDについてマウスにおける急性毒性与中毒時における行動の観察を行ない、またウサギの体温に及ぼす影響を検討した。DMT, DET, および DMHP については現在検討中である。

ii) 医薬品添加物基準調査研究, 医薬品添加物の毒性に関する研究(薬務局依託研究)

医薬品添加物のうち, N, N-Dimethylacetamide および Benzalkonium chloride について, マウスの皮膚塗布による慢性毒性試験を発がん性に重点をおいて行なっている。

iii) 注射剤の安全性に関する研究(薬務局依託研究)

現在、臨床的に問題となっている大腿四頭筋拘縮症に関連して、各種筋肉注射剤の安全性検討のため、当部では、粘膜に対する刺激作用と実験動物の大腿四頭筋部に注射して投与部位の組織障害を検討中である。

2) 化粧品

タール色素の毒性に関する研究(薬務局依託研究)

ラットによるだいたい204号の発がん性を含む長期毒性研究および赤色201号、黄色205号の亜急性毒性研究を、また、マウスによる赤色230号の急性毒性試験を行なった。

3) 照射食品の安全性に関する研究(原子力研究)

i) 照射小麦のラットにおける長期毒性研究

ii) 照射ウィンナー・ソーセージのラットにおける長期毒性研究、マウスにおける世代ならびに催奇形性試験、およびマウスにおける発がん試験

iii) 照射みかんの試食試験

iv) 照射かまぼこの試食試験

4) 食品添加物(環境衛生局行政研究, 厚生省がん助成金研究)

i) AF-2の急性および慢性毒性に関する研究

ddY/SLC(SPF)雄マウスにAF-2の0.05, 0.15および0.45%含有飼料を与えたところ、6か月において、用量関係のきわめて明瞭な肝の変化と白血球減少を認め、また8か月以後12か月までに死亡した実験群の動物にはほぼ用量関係のある前胃悪性腫瘍の発生が認められた。一方、この実験において骨髓細胞の染色体異常を検索したが急性・慢性実験とも検体投与による異常は認められなかった。(一学会発表 106~108)

ii) サリチル酸の長期毒性研究

アスピリンと比較して行なった本剤のラットにおけるか21か月の実験をまとめた。

iii) DHA-Naの長期毒性研究

本剤の0.03~1.0%含有飼料をラットに22か月投与の実験をまとめた。

iv) サイクラミン酸塩およびサッカリンの長期毒性研究(一学会発表 110)

v) 赤色102号の胎仔毒性研究

vi) 黄色5号のラットにおける催奇形性試験

vii) 緑色3号のマウスにおける催奇形性試験

5) 家庭用品

i) 中性洗剤の催奇形性に関する研究(環境衛生局行政研究)

前回のマウスに引き続きウサギを用いてLASを皮膚に適用した場合の催奇形性を検討中である。

ii) 柔軟剤の毒性に関する研究

柔軟剤(陰イオン活性剤)ナトリウムアルキルサル

フェートおよびジアルキルスホ琥珀酸エステル塩の催奇形性についてマウスを用いて検討中である。

6) 化学物質

i) 既存化学物質の毒性に関する研究（薬務局安全課行政，委託研究）

モノクロルベンゼン，スチリルキシレン，ジニトロトルエン，アルキルナフタレンの急性および亜急性毒性について検討し，また，ドデカクロロドデカヒドロジメタンジベンゾジクロオクテン，ポリクロルベンゼン，ポリ塩化トリフェニールについて慢性毒性および催腫瘍性について実施中である。

7) 高分子凝集剤の毒性に関する研究（環境衛生局依託研究）

近年，高分子凝集剤が地盤凝結その他の目的で広く用いられ，これら物質による地下汚染の結果，人の健康障害をきたすことを予防する目的で，Na- β -スルフォプロピオンアミドおよびハイドロオキシプロピオンアミドの急性毒性試験を行ない，また，トリニトロプロピオンアミドの亜急性毒性試験を実施中である。

8) 食品汚染物質

i) サルにおけるメチル水銀の長期毒性研究（環境衛生局委託研究）

46年度から総数 25 頭のサルを用いて，メチル水銀の人体耐量設定のための資料とすることを目的として，本研究を行なっており，既に 4 年間の連続検体投与を経ている。毛中および血中水銀量の測定から体内水銀蓄積量は略々固定化したと推定される。〔→学会発表 109. Toxicology 1, 361, (1973)〕

ii) マレイン酸マンガンの亜急性毒性研究（環境衛生局委託研究）

重金属類の人体衛生への影響を調べる目的で，水溶性マンガンのラットによる毒性研究を行なっている。マレイン酸マンガンを 1 w/w % 含有する飼料を与えた動物では，体重抑制，血中尿素窒素の増加等が認められ，また，この群では肝および腎におけるマンガンの増加を生じた。（環境衛生局に報告）

iii) PCB の次世代に及ぼす影響とその慢性毒性に関する研究（環境衛生局委託研究）

2 代まへの親から引続き KC-400 の 0, 20, 100 および 500 ppm 含有飼料を与えられた ddY/SLC マウス（F2 動物）について 20 月にわたる慢性毒性研究を行なった。この間，3, 6, 12, 18, 20 月に行なった血漿生化学的，病理学的検査等の結果については前年度までに詳細報告し，検体投与によって最も強く影響の現われるのは肝であることを明らかにした。今回，この実験で途中死亡例中肉眼的に肝に腫瘤を認め

たものについての組織学的検索を行ない，定期解剖例と併せて検討したところ，100 ppm 群以上に肝腫瘤が発生することが認められ，500 ppm 群では悪性像を示すものもみられた。

iv) 水銀が乳児の健康に及ぼす影響に関する研究（児童家庭局依託研究）

塩化メチル水銀添加飼料の投与量および母体条件の異なるラットで動物実験を実施中である。すなわち，交配妊娠より成熟期投与までと，離乳時より成熟期投与までについて，母体から胎盤および母乳を通じ新生仔への水銀の移行と発症動態，病理組織学的検索を行なう。

v) 流出油の安全性に関する研究

49 年 12 月岡山県水島の石油流出事故に関連して，いわゆる流出油についてマウスおよびラットによる急性毒性実験を行なった。

医 化 学 部

部 長 山 羽 力

概要 この一年間に当部で行なった業務としては，行政的要請に基づく食品添加物，合成洗剤，フタル酸エステル類の代謝に関する試験研究，発がん物質，制がん剤の生化学的研究およびビタミンを含む製剤の特別審査試験があげられる。

人事面では 5 月末に嶺岸技官が 1 年間の予定で米国ミシガン大学へ留学に出立した。

業務成績

1) 特別審査試験

解熱痛薬 2 件で，いずれもビタミンの試験法および規格に関する審査である。解熱鎮痛薬中のビタミンは B₁，B₂，C など，いずれも可であった。

研究業績

1) トリフェニルメタン系食用色素の代謝に関する研究

トリフェニルメタン系色素の中で現在食品添加物に指定されているものは，青色 1 号と緑色 3 号だけになったが，これらが既に禁止となった緑色 1 号や紫 1 号と比べて代謝面でどのような差異があるかを検討する。本年度は ³H-標識青色 1 号をラットに腹腔内投与し，全身オートラジオグラフィーによりその組織内分布を調べたところ，その大部分は胆汁を経て腸管へ排泄されることが明らかとなった。（一誌上発表 51）

2) モルホリン脂肪酸塩の代謝に関する研究

モルホリン脂肪酸塩は被膜剤として食品添加物に指

定されているが、モルホリンは亜硝酸と反応して発がん性のあるニトロソモルホリンになる可能性がある。そこで ^{14}C -標識モルホリン塩酸塩およびパルミチン酸塩を合成し、ラットに経口投与すると速やかに吸収されその大部分は未変化体として尿中に排泄されることが分った。また静注したときの組織内分布についても検討したが、特に親和性の高い臓器や滞留性は認められなかった。(→学会発表 71, 72)

3) サイクラミン酸ナトリウムの代謝に関する研究

摂取されたサイクラミン酸塩が腸内細菌によりシクロヘキシルアミンに変化することは既に明らかになったが、生体内でのシクロヘキシルアミンの脱アミノ機構については明らかでない。サイクラミン酸資化菌(*Pseudomonas sp.*)からシクロヘキシルアミンに特異的なオキシダーゼを精製し、その性状を調べた。またシクロヘキシルアミンの腸内嫌気性菌による嫌気の脱アミノ機構についても検討中である。

4) 細菌および肝マイクロゾームのニトロレダクターゼによる AF_2 の還元機構に関する研究

AF_2 の細菌に対する殺菌作用、突然変異誘発性および哺乳動物に対する発がん性はすべて、 AF_2 中のニトロ基の還元によって始まると予想されるので、 AF_2 の細菌と肝マイクロゾームによる還元機構を比較検討することを試みた。先ず酵素反応系での AF_2 の定量法を確立し、大腸菌抽出液による AF_2 のニトロ基還元作用について検討した。

5) フタル酸エステル類の生化学的研究

^{14}C -標識 DEHP をラットに静注したときの吸収、排泄、分布について検討した。(→学会発表 73)。

^{14}C -標識 DEHP を合成し、全身オートラジオグラフィの実験に供した。(医療助成研究) また各種フタル酸エステルおよびその類似化合物のミトコンドリア呼吸に及ぼす影響についても検討した。

6) 合成洗剤の代謝に関する研究

i) ^{35}S -ステアリル硫酸ナトリウムのラットによる吸収、排泄、分布について検討した。一般に合成洗剤に使われている高級アルコール硫酸エステルは、生体内で代謝を受けてアルキル直鎖が短くなって尿中排泄されるので、その代謝物の同定も合わせて行なった。

ii) 界面活性剤である合成洗剤はその量に応じて生体膜に何らかの影響を与えることが考えられる。そこでポリオキシエチレンアルキルエーテルをはじめ数種の合成洗剤(LAS, AOS, AES など)のヒト赤血球膜に及ぼす影響を種々検討した。

7) N-ニトロソ尿素誘導体の生化学的研究

^{14}C -N-ニトロソプロピル尿素を妊娠ラットに経口投

与し、その全身オートラジオグラフィを行ない、母体各組織および胎児への分布について検討した。その結果、血液中に放射活性が高いことを認めた。(文部省科学研究費)

8) 内因性発がん物質の研究

^3H -3-ヒドキシキヌレンをマウスに腹腔内投与し、その全身オートラジオグラフィを行ない、臓器別の代謝物の分離、同定を試みた。その結果、未変化体は主に脾臓に存在することが分った。(→学会発表 74~76, 文部省科学研究費)

9) 制がん剤ビス-N-ニトロソ化合物の生化学的研究

1, 1'-ニチレンビス(1-ニトロソ尿素)の温和な条件下での分解性を調べたところ、pH に対して影響されるほか、システインの共存下で著しい分解の促進が認められた。その際、多量のシステインの生成を伴うことが分ったので、その反応機構を推定した。(→学会発表 4, 文部省科学研究費)

薬品病理部

部長 小田嶋成和

概要 当部を運営の中心とする厚生省癌研究助成金による大型プロジェクト・チーム「癌原性のスクリーニング法開発に関する研究班」が二年目に入り、可成りの成果を上げて諸外国より注目され、日米両国の研究協力体制が指向されるに至った。

一方、従来の研究課題であったニトロソ化合物による発癌研究に対し、日本癌学会総会で特別講演の機会が与えられた。

人事移動としては、昭和50年1月に高橋技官が、3月に渡辺技官が退職し、4月に松岡技官、金子技官(兼任)が、5月に沢田技官が任用された。

研究業績

1) 実験動物の自然発生腫瘍に関する研究(文部省癌特別研究)

ACI/N ラット、ドンリュウラット、マストミス、CDF₁ マウス、ブルントマウスを長期間、普通食で飼育し、自然発生腫瘍について病理学的検索を行なっている。

ACI/Nラットについては実験は終了し、雄では精巣間細胞腫、雌では下垂体腫瘍が多く認められた。(→学会発表 91)

2) 化学物質の癌原性と標的臓器との相関に関する研究(文部省癌特別研究)

i) アゾ化合物の癌原性に関する研究

アミノアゾベンゼンのメトキシ誘導体および、ボンソーRの誘導体をラットに長期間経口投与し、発癌性を病理学的に検索中である。

ii) N-ニトロソ化合物の癌原性に関する研究

メチルアセチルニトロソ尿素 (AcMNU), メチルニトロソ尿素 (MNU), エチルニトロソ尿素 (ENU), プロピルニトロソ尿素 (PNU), ブチルニトロソ尿素 (BNU), ジメチルブチルニトロソ尿素 (DM-BNU), プロピルニトロソウレタン (PNUr), ブチルニトロソウレタン (BNUr) の発癌実験を行なった。(→学会表 92, 93, 97, 102, 103, 誌上発表 68)

AcMNU と MNU は共に神経系腫瘍を造るが、前者は中枢神経系に、後者は末梢神経系に特異的に腫瘍を造る。

ENU, PNU, BNU はいずれも白血病を発生させるが、ENU は赤芽球性白血病, PNU は骨髄球性白血病, BNU は骨髄芽球性白血病を発生させる。(→学会発表 102, 104, 誌上発表 69, 76, 78) また PNU 一回投与では乳腺腫瘍, 白血病の発生がみられた。

(→学会発表 92) DM-BNU投与により、白血病, 腺腫瘍が誘発された。(→学会発表 93)

PNUr と BNUr は共に口腔から咽頭, 食道前胃に至る上部消化管の扁平上皮癌を選択的に発生させる。(→誌上発表 74)

現在、アミルニトロソ尿素, ジブチルニトロソ尿素, メチルニトロソウレタンによる発癌実験を開始している。

iii) カビ毒の癌原性に関する研究

ステリグマトチスチンをラットに経口投与、その癌原性を病理学的に検索中である。

3) 食品添加物および蛍光染料の安全性に関する研究

i) 亜硝酸および硝酸の慢性毒性および癌原性に関する研究

ii) 安息香酸, 亜硝酸塩の催奇形性に関する研究
(安息香酸, 厚生省に報告)

iii) スチルベン系蛍光染料の癌原性に関する研究

現在使用されている蛍光染料の内、2 検体を飼料中に混合、ラットに経口投与し、発癌性を検索中である。

4) 発癌過程およびそれに影響を及ぼす諸因子の研究 (文部省癌特別研究)

i) 発癌に及ぼす宿主要因に関する研究

化学物質による腫瘍発生と宿主免疫能との相関を検討するため、宿主に免疫学的操作を加え、実験を行っている。

ii) 白血病発生過程における細胞病理学的研究

発癌剤によるラット白血病の発生過程にみられる血液学的・病理学的変化を経時的に観察、検討した。

(→学会発表 105)

5) 実験動物による発癌剤スクリーニング法の開発に関する研究 (厚生省癌特別研究および文部省癌特別研究)

i) 新生仔直接投与法に関する研究

生後 24 時間以内の新生仔マウスおよびラットに、ジメチルベンツアントラセン, ニトロソグアニジン誘導体, ステリグマトチスチン, BBN 関連化合物, アントラニール酸, OH-アントラニール酸, ブチルウレタン, ブチルニトロソウレタン等を皮下投与し、それらの癌原性を病理学的に検索すると共に、この方法が化学物質の癌原性をスクリーニングする手段として信頼できるかを検討した。(→学会発表 94, 99, 103, 誌上発表 73, 75)

ii) 経胎盤投与法に関する研究

アントラニール酸, OH-アントラニール酸, ブチルウレタン, ブチルニトロソウレタン等を妊娠中の母体に投与し、次世代動物に腫瘍が発生するか否かを病理学的に検索すると同時に、この方法が癌原性のスクリーニング法として適するか否かを検討中である。

6) 培養細胞を用いる発癌剤スクリーニング法の開発に関する研究 (厚生省癌特別研究)

チャイニーズハムスター培養細胞に対する発癌性物質あるいは非発癌性物質の影響を細胞増殖抑制, 細胞分裂期染色体異常を指標として検討し、その方法が化学物質の癌原性をスクリーニングする方法として適当か否かを検討した。(学会発表 98)

7) 化学物質の細胞急性毒性に関する研究 (厚生省行政研究および文部省癌特別研究)

i) フタル酸エステル, 硝酸, 亜硝酸, 安息香酸の細胞毒性に関する研究

ii) ニトロソ化合物の細胞毒性に関する研究

ニトロソ尿素系 14 検体, ニトロソウレタン系 6 検体, ニトロソグアニジン系 13 検体, ジアルキルニトロサミン 6 検体につき、細胞増殖抑制, 細胞分裂期染色体異常を指標として細胞毒性を検索した。

iii) ワラビ成分の細胞毒性に関する研究

生薬部との共同研究として、ワラビ成分の培養細胞に対する影響を検索中である。

8) 原発および移植腫瘍の細胞病理学的研究 (文部省癌特別研究)

i) 化学物質誘発白血病の細胞学的研究

プロピルニトロソ尿素によりラットに誘発された白

血病を染色体変化を指標として細胞病理学的に検討中である。

ii) 可移植性ラット白血病, 膀胱癌および培養系細胞の細胞病理学的研究

可移植性のラット白血病, 膀胱癌および培養系細胞の染色体構成を経時的に検索し, その変異を比較する目的で実験継続中である。(→学会発表 90, 95, 96, 誌上发表 70)

iii) 移植腫瘍の増殖, 浸潤および転移に関する研究

あらかじめ宿主に免疫学的, その他の処理を行ない, 腫瘍細胞を移植し, 腫瘍細胞の増殖, あるいは浸潤・転移形成に及ぼす影響を観察した。(→誌上发表 71, 72)

iv) 可移植性腫瘍系の確立に関する研究

エチルニトロソ尿素によりラットに誘発された赤芽球性白血病を継代移植すると同時に培養系に移し, 細胞学的・病理学的にその性格を検索中である。

9) 制癌剤のスクリーニングに関する研究(文部省癌特別研究)

合成化学研究部との共同研究として, 1,1'-ポリメチレンビス(1-ニトロソウレア)類, ピリダジンおよびシンノリン N-オキシドのニトロ化体等, 種々の化合物のラット腹水肝癌 AH-13 あるいはマウス白血病 L-1210 に及ぼす影響を検索した。(→学会発表 101, 89)

附属図書館

館長 朝比奈正人

管理閲覧係長は昭和49年4月15日より内藤正雄となった。昭和49年度における附属図書館の図書雑誌の購入は, 外国図書購入費193万円, 外国雑誌購入費580万円, 国内図書雑誌購入費48万円, 計821万円, そのほか調査室の図書雑誌購入費119万円の予算で実施した。

衛生試験所報告第92号は昭和49年11月15日付で発行された。報文8, ノート7, 資料14で, 他に誌上发表101, 学会発表111であった。

附属図書館は日本薬学図書館協会に加盟し, 薬学関係の図書館との横の連絡をはかっているが, 昭和49年11月1, 2日に愛知会館で開かれた同協議会の研究集会に, 当館からも高師, 武田の両氏が参加した。また昭和50年3月26日に北里大学白金図書館で開催された同協議会東部地区第2回例会にも参加した, なお昭和49年12月25日同協議会から薬学図書館雑誌総合目録が発刊された。そのほか文部省の学術雑誌総合

目録自然科学欧文編1975年版の編集刊行についての協力依頼があり, 当館もこれに応じて目録を提出したが, これは昭和50年5月1日に紀伊国屋書店より発刊された。

昭和49年は当所でも創立百周年記念式典の行われた年であるが, また医制百年の年でもあり, 各地で医学薬学に関する歴史の展覧会が開かれた。昭和49年8月には日本橋三越において, 洋学二百年記念会と朝日新聞社の主催による「洋学二百年記念展」が開かれた。これは解体新書出版二百年を記念したものである。また昭和50年3月~4月には大阪市立博物館において, 大阪市教育委員会の主催による「近代日本の医学と産業展」が開かれた。これら二つの展覧会に当所が所蔵するゲールツ氏作製の日本薬局方蘭文草案等を出品した。

調査室および情報係は従来通り医薬品, 食品添加物, その他化学物質の副作用, 毒性に関する情報の収集, 提供を行なった。調査月報は第7巻第4号より第8巻第3号まで12冊を発行した。薬物の Bioavailability: 原則と問題点—WHO 科学専門委員会報告(薬品部 杉岡なお子, 江島昭, 井上哲男), WHO の化学参照物質に関する会議に出席して(生物化学部 川村次良), DEHP の毒性・代謝研究の現況(医化学 田中彰)は調査室外の所員の協力を得たもので, 有益な資料であった。調査月報の性格については問題点が多いが, 一般には手に入れにくい注目すべき重要な資料の訳または紹介に重点が置かれる傾向が強くなってきた。今後もこれを調査月報の特徴としてゆきたいと考えている。

昭和49年度における調査室の重要な業務の一つは厚生科学研究として「医薬品の副作用情報の処理に関する研究」を行なったことである。附属図書館長朝比奈正人が主任研究者となり, 分担研究者は日本医薬情報センター理事長久保文苗, 国立衛生試験所薬理部長大森義仁, 国立東京第二病院内科医長伊藤宗元, 東京大学医学部講師鈴木秀郎の構成であった。なお事務関係は薬務局安全課が行なった。これは医薬品の副作用情報特に副作用モニター報告の処理について, 将来コンピュータの使用を考慮し先ず副作用用語の整理を行なおうとするものであった。WHO の国際副作用モニター制度のシステムに準拠して, 日本語の副作用用語の基本語を設定し, 若干の慣用語を整理して一応報告を完了した。しかしさらに完全なものとして第一次の原案を作製して一般の方々のご意見を求めるために, この仕事は昭和50年度もひきつづいて行なうこととした。

また調査室は、WHO の PCB 総説の編集のため日本文献を収集整理するという環境庁からの委託業務に関し、毒性部に協力した。

情報機関の横の連絡の一つとして、医療情報システム開発センターが音頭をとり、14の情報機関からなる医療情報サービス関係団体懇談会が発足し、昭和50年2月10日第一回の会合が開かれ、今後もつづけられることになった、当所調査もこれに参加している。また日本学術振興会の主催する科学技術データ活動の促進に関する懇談会にも出席し、厚生省の関係を受持った。

大 阪 支 所

支所長 朝比奈晴世

大阪支所は、今年度も、国家検定、製品検査、輸入食品検査などの業務として件数が多かった。

薬品部、食品部、薬理微生物部の3部ともそれらの検体を処理するとともに、製剤の溶出あるいは安全性に関する特別研究に参加した。

特にプラスチック容器のブドウ糖液が国家検定を受けるため、容器に添加される安定剤の溶出性が研究の対象になった。その他日本薬局方の改訂に伴う規格、試験法の作成、食品添加物の規格設定、食品中有害物質の検出、食品添加物の毒性、催奇形性についての研究がおもな題目である。

以下各部別に詳述する。

薬 品 部

部 長 持 田 研 秀

概要 ここ2カ年に亘る特研課題を積極的に推進し、製剤の溶出あるいは安定性などの研究は着実に成果を治めている。一方、注射用プラスチック容器の開発を契機として、注射剤に含まれる有害微粒子の検査や容器に添加される安定剤の溶出試験などに厳しい規格の設定が要望されており、国家検定業務にも新たな局面を迎えることになった。

また日局9の改訂作業の進捗に伴ない、収載品目の規格あるいは試験法の作成を担当し、遭遇した問題を慎重に検討した。

なお、京大薬品物理教室に科学技術庁内地留学生として約1カ年派遣した岡田技官が帰庁し、昭和49年9月15日付で長崎技官が退職した。また昭和50年4

月1日付で森下技官が当部に配属された。

業務成績

1) 国家検定

ブドウ糖注の需給事情の好転に伴ない、検定件数の急激な伸長がみられ（ブドウ糖注、リンゲル液 1,091件）、とりわけ輸液用プラスチック容器の進出は目覚しく、前年の同期に比し倍に増加した。そこで異物検査に支障をきたす容器の透明性あるいはプラスチック成形時に添加される可塑剤、抗酸化剤などの溶出を厳重にチェックすると共に、これらの規格の一部を改正することを JP9 委員会に提案した。別にプロチオナミド末（5件）、同錠（22件）の理化学試験を実施した。

2) 一斉取締り試験

本年度は市販製剤のうち、メプロバメート錠（5件）、インドメタシンカプセル（5件）の JP8 崩壊試験を実施したが、これらの製剤について、注目の含量均一性および溶出試験など公定書収載えの手掛かりを得ることができた。

3) 特行試験

収納あへん 20 件（内訳、和歌山県 6 件、岡山県 14 件）のモルヒネ含量試験を実施した。

4) 一般依頼試験

輸出入ビタミンC末2件につき、USP XVIII 適否試験を行なった。

研究業績

1) 医薬品の規格および試験法の作成に関する研究

i) 医薬品の溶出試験方法に関する研究（厚生科学研究）

製剤からの溶出速度を規定するために、各種の溶出試験装置の開発および改良をすすめてきたが、今期は、消化管中における薬物の溶出と対応させるため、pH gradient continuous flow 形の溶出試験装置を試作し、水に難溶なインドメタシン製剤を選び、その溶出挙動を明らかにした（一誌上発表 21）

ii) 薬局方の作成

I、II部に収載の原薬、製剤について、つぎのように規格および試験法の作成を行なった。

X線造影剤（6種）の赤外吸収スペクトル測定による確認試験、サリチル酸含有製剤および複合ビタミン剤の確認・定量法、マレイン酸エルゴメトリン、メチルエルゴメトリンおよび酒石酸エルゴタミンの薄層クロマトグラフィーによる純度試験、塩酸クロルヘキシンの氷醋酸—ギ酸溶媒系による非水滴定、クエン酸ナトリウム、リン酸水素カルシウム、リン酸二水素カルシウムなどの重金属試験、輸液用プラスチック容器試験法などの規格設定である（厚生省安全課へ報告）

2) 医薬品の分析化学的研究

- i) 強酸におけるステロイド関連化合物の挙動：コレステロールの Liebermann-Burchard 反応について

本反応において、cholesterol から cholesteryl ethylether および cholesteryl methylether を生成し、その起原は溶媒中の無水醋酸であることを確認した。(分析化学、投稿中)。

- ii) 強酸におけるステロイド関連化合物の挙動；ベタメタゾンの Porter-Silver 反応について

本反応では、ベタメタゾンフェニルヒドラゾンは生成されず、硫酸反応が呈色に関与することを推定した。またデキサメタゾンはフェニルヒドラゾンを生成し、 $\lambda_{\max}$ 420 nm の呈色を確認しうることが明らかとなった。(薬誌、投稿中)。

3) 製剤の分析化学的研究

- i) 生薬を含有する製剤の定量化

生薬製剤に含有される有効成分の薄層-デンストメトリーによる直接定量法の研究(→学会発表 20)の一環として、オウレン中のベルベリン、コブチシン、パルマチンをポリアミド薄層電気泳動法で分離し、前二者をデンストメトリーにより簡易に定量した(→誌上発表 20)。また本法を応用しアクリノール、マレイン酸クロルフェニラミン、臭化メチルスコポラミンなど塩基性薬物を含む市販整腸剤中のタンニン酸ベルベリンの定量を行なった〔厚生科学研究、衛生試報、93、89(1975)〕

- ii) メプロバメート錠の崩壊および溶出試験法について

メプロバメート錠の USP XVIII 溶出試験に収載されている J₂ 比色法は添加されるエタノール濃度に大きく影響を及ぼす。そこで、若干の改良を行ない崩壊と溶出試験の相関性について検討を行なった〔衛生試報、93、86(1975)〕

4) 薬物と生体膜脂質との相互作用に関する研究

- i) レシチンコレステロール混合単分子膜へのフェノチアジン系向精神薬の浸透

トリフルオベラジン、フルフェナジンおよびトリフルオプロマジンとレシチンコレステロール混合単分子膜との相互作用を解明するために、単分子膜の表面圧一面積曲線の変化を求め、薬物の浸透性の差異を明らかにした(→学会発表 116、117)。

5) 薬物および生理活性物質の作用機序に関する研究

- i) ヒマ種子に含まれる ricin の生理活性に関する研究

植物毒蛋白質 ricin の構造と発熱活性について、endotoxin との差異を明らかにした(→誌上発表 81、82)。さらに家兎の末梢血管透過性亢進作用を解明し、プロナーゼ作用ではないことを明らかにした(衛生化学、投稿中)。

食 品 部

部長 慶田 雅 洋

概要 昭和49年7月10日付で食品第2室長伊賀宗一郎技官が大阪空港駐在の薬事専門技官に転出し、食品部長が第2室長事務取扱となった。また同年11月5日付で田中清子技官が退職した。昭和50年4月1日付で山形大学教育学部より豊田正武技官が着任した。また同年5月15日より外海泰秀技官が“食品添加物、とくに食用タール色素の環境代謝に関する研究”で岐阜大学医学部公衆衛生学教室の館正知教授の下に国内留学し研修している(同年12月17日までの予定)。

前年に続いて輸入食品検査と製品検査(タール色素)の件数は減少した。食品中の添加物の試験法の研究、食品中の有害物質に関する研究および食品添加物の規格の設定と改訂の作業に主力を注いだ。全国衛生化学協議会および衛生化学調査委員会関西部会を通じて近畿地区などの衛生研究所と技術交流を行ない検査技術の進歩に貢献した。

業務成績

1. 製品検査：タール色素の基準量は前年と同じく300 kgであったが、総件数は前年度の812件から447件へと45.0%の減少を示した。西日本に関しては国内向け食用タール色素の生産量は減少の傾向にある。内訳はアルミニウムレーキは37件であって、水溶性タール色素は410件であった。水溶性のものでは食用黄色4号の145件が最高で、2位は食用赤色102号の82件であった。不適とされたものは食用赤色2号が他の色素の項で64件中15件、同赤色3号が液性の項で18件中2件であった。アルミニウムレーキは60%近くが食用黄色4号アルミニウムレーキであった。同5号アルミニウムレーキ5件中2件から附随色素が検出された。

2. 輸入食品検査：総件数は182件で前年度にくらべて98件、35%の減少を示し、47年度に対し検体数は1/3となった。合格138、不合格34、無判定10、不合格率は18.7%であった。項目別でみると総項目数354、不合格項目数34で不合格率は9.6%であった。とくに目立ったものは、オランダ製チョコレート菓子

中の人工着色料の試験で14件全部より Ponceau 6R と Patent Blue V が検出され不合格、アメリカ産冷凍果実飲料の試験で14件中5件不合格（1件は落下試験による破損、4件より人工着色料検出）であった。即ち濃縮ライムエードよりタートラジンと他に微量の青色色素が、濃縮オレンジドリンクよりタートラジンとサンセットエロー FCF が、濃縮フルーツパンチよりアルラレッド AC が、濃縮レモングレープドリンクよりアルラレッド AC とブリリアントブルー FCF が検出された。冷凍果実飲料には化学的合成品の使用は禁止されている。その他、香港製金花糖（白 2, 黄 2）の亜硫酸の試験で4件全部不合格、英国製粉末清涼飲料等（粉末ビーフン、粉末ファットボン、粉末ガムアカシア、粉末グレープフルーツ、粉末オレンジ、粉末レモン、粉末黒干ブドウ）の亜硫酸の試験で粉末ガムアカシア以外の6件が不合格であった。品目数で多かったのは酒精飲料の43件、菓子類の35件、香辛料の21件、清涼飲料水・粉末清涼飲料・冷凍果実飲料の22件および冷凍水産物の14件であり、項目数で多かったのは人工着色料の59件、ソルビン酸、ソルビン酸塩の40件、有害性金属の37件、安息香酸・安息香酸塩の36件、亜硫酸の35件、メタノールの27件、スルファミン酸の21件などであり、以下16項目に亘っている。昭和47年度には323件あったアフラトキシン検査が4件に、35件あったホルムアルデヒドの試験が7件に減少したのは何れも海空港および民間検査機関の態勢の充実を示すものであり、その結果当所で受付けるものは従来の試験例、文献、資料の全くないものが持込まれるようになり（例、もやし豆中のジエトロボペンタメチレントトラミンと亜りん酸の検索）、検体数の減少と逆比例して仕事量は増加した。

3. 特別行政試験：農薬の残留基準設定のための実態調査を64検体（生産地調査分：うめ 6, ブロccoli 6, ふき 6, とうがん 10, 市場調査分：うめ 6, ブロccoli 6, ふき 6, とうがん 6, やま芋 6, 紫キャベツ 6）について有機塩素農薬（アルドリノ、デイルドリノ、エンドリン、 α -, β -, γ -および δ -BHC, P, P'-DDT, P, P'-DDE, ヘプタクロルエポキシサイド）並びに有機りん農薬（パラチオン、メチルパラチオン、スミチオン、マラチオン、フェンチオン、ダイアジノン、ロンネル）の残留分析を行ない昭和50年5月8日に厚生省食品化学課に報告した。

4. 食品添加物の規格の作製および改訂：昭和49年3月1日に「第3版食品添加物公定書」が刊行された。これを機会に大阪食品添加物協会と協力して添加物の規格と試験法の見直し作業を開始し、色素試験法

の重金属の項に（4）マンガンを追加する件（食用青色1号の製造の課程で重クロム酸カリウムの代りに過マンガン酸カリウムを使った場合の残留量を規制する）、第一リン酸カルシウムの含量規定、純度試験の（4）重金属、定量法の改訂、第二リン酸カルシウムの含量規定、純度試験の（1）溶状、同（4）重金属、定量法の改訂、第三リン酸カルシウムの含量規定、純度試験の（4）重金属、定量法の改訂および L-アスパラギン酸ナトリウムの乾燥減量、含量、比旋光度、定量法の改訂の案を作製し、49年12月に厚生省食品化学課へ送付した。

研究業績

1. 残留農薬に関する研究：前年度に引続き炎光光度型検出器付き ガス クロマト グラフの応用を推進した。硫黄化合物含有試料中の有機りん農薬の分析の際は含硫化合物の妨害を排除することが必要である。ねぎ、たまねぎ、にらの場合フロリジルカラムによるクリンアップが良好な結果を示し、にんにくの場合はさらに薄層クロマトグラフィーにより精製した。また cross interference を低くするための FPD の操作条件を検討し、空気と水素の最適流量を選択し、P mode で有機りん農薬を定量した。（→誌上発表 22, 23）一方、キャプタン、ダイホルタンおよびモレスタンの残留分析は S mode で行うのがよいことが見出された。残留農薬の分解については、紫外線照射下でのキャプタン、ダイホルタン、モレスタンの分解を追求し、キャプタン、ダイホルタンより 4-シクロヘキセン-1, 2-ジカルボキシイミドの生成することを確認した。（→学会発表 6）アルドリノの次亜塩素酸カルシウムによる分解についても検討した。（→学会発表 21）

2. 各種食品中のホウ酸の微量定量法：衛生試験法収載のクルクミン比色定量法は 1,000~4,000 ppm のホウ酸含量のものについてのものである。微量化を試み、灰化した試料を直接呈色反応にかけることにより中和回数を減じ、検出感度を 100 倍とした。

3. 鉛イオン選択電極によるタール色素中の硫酸塩の定量：水溶性タール色素 10 種の硫酸塩の定量を鉛イオン選択電極で行なう方法について検討した。色素溶液を硝酸鉛で滴定して硫酸イオンの存在による電位の上昇を鉛選択電極を取り付けたイオンメーターで測定するものであって、回収率もほぼ 100% であった。（→学会発表 33, 36, 誌上発表 27）

4. カラギーナンの硫酸根と粘度の試験法：天然物添加物の規格設定の研究の一環として天然増粘剤カラギーナンを取上げた。粘度の測定に BN 型回転粘度計を採用した。（→誌上発表 34）

5. 牛乳、乳製品の規格設定に関する研究：衛生化

学調査会乳部会および日本国際酪農連盟の会員と協力してカドミウムカラム還元法によるチーズ中の硝酸塩および亜硝酸塩の定量法を設定した。(→学会発表 22) また 10% silar 5-CP を液相とする昇温ガスクロマトグラフィーによる脂肪酸のブチルまたはメチルエステルの分析を行ない、乳脂肪中の異種脂肪の検出法について検討した。その他粉乳の Asfalec 酸度と乳酸・乳酸塩含量から求めた理論酸度の差から粉乳中の中和剤の添加を検出する方法について検討中である。(→学会発表 24)

6. 食品中の添加物の試験法について：かんきつ中のジフェニル(DP)、O-フェニルフェノール(OPP)、およびチアベンダゾール(TB)の系統的分析法を検討した。3者とも防かび作用を有するがわが国ではDPのみ許可されている。食品衛生検査指針の精油定量器を使う方法は精油成分などの妨害物質を除去できずOPPおよびTBのDCによる定量に際して妨害となるので、試料の酢酸エチル抽出物を濃縮し、キシレンに転溶させ、3種の溶離液を用いて3保存料と妨害物質を分離した後、DPとOPPは水素炎イオン化型GCで、TBは蛍光光度型GCでそれぞれ定量する方法を確立した。DP、OPPおよびTBの検出感度はそれぞれ、0.025、0.05および0.01ppmであった。(→学会発表 23)

食品中のサッカリンのガスクロマトグラフィーについて、ジメチルホルムアミド・ジメチルアセタールによるメチル化法、ジアゾメタンによるメチル化法およびトリメチルシリル化法を比較した結果、ジアゾメタン法がエステル化率では最も優れていることを知った。蛍光光度型検出器を使用した方が水素炎イオン化検出器の場合より100倍の感度で測定でき、とくに醬油のように妨害物質の多い場合には前者の方が有利であることを示した。

7. その他：そう硬度試験による歯磨の硬度測定法の設定に関する研究および化粧品中のヘキサクロロフェンの定量法に関する研究を行なった。

薬理微生物部

部長事務代理 朝比奈晴世

概要 前年に引き続き、ブドウ糖液、リンゲル液の国家検定に加えて、輸入食品の細菌試験検査などの業務を遂行した。

なお発熱物質に関する研究を継続し、食品添加物の安全性、毒性、合成洗剤の毒性についても、研究を

続行中である。

部長加納晴三郎は、昭和50年1月6日より細菌毒素の構造と作用機序に関する研究のため、アメリカ、ミネソタ大学微生物学部に在外留学中である。

業務成績

国家検定は、ブドウ糖注射液1,050件、リンゲル液41件、計1,091件について発熱試験および無菌試験を行なったが、全件合格した。なおプラスチック容器のブドウ糖液20mlが新たに国家検定されることになった。

輸入食品検査については、各種食品の細菌検査を行ない、45件中不合格件数は1件であった。

研究業績

1. 発熱物質に関する研究

i) Pyrogen test と Limulus test との相関性に関する研究

カプトガニの血球成分が細菌内毒素と反応してゲル化する反応、すなわち Limulus test が Pyrogen test といかなる相関性を示すかについて研究を続け、両 test は内毒素に対する反応性において、必ずしも平行するものでないという成績を得ており(→学会発表 113)、さらに内毒素の化学構造とその活性との関連性における Limulus test の応用面を検討している。

ii) 細菌性発熱物質の中樞作用に対する重要な役割を明確にするため、数種の動物のミエリン鞘およびグリア細胞膜の proteolipid と細菌性発熱物質との相互作用について検討した。(→学会発表 115)

iii) 細菌性発熱物質の末梢作用を明らかにするため、妊娠ラットに内毒素を投与し、母体および胎仔に対する影響を検討した結果、母体は一過性に体重減少を示すのみで、胎仔には影響が認められなかったが、羊水中の蛋白量は著明に増加したことから胎盤透過性に関する有力な手がかりを得た。(→誌上発表 85、応用薬理印刷中)

2. 薬物代謝に関する研究

発熱物質に関する研究を基盤とし、発熱時における複合剤の吸収、代謝、および薬効面での基礎研究として、アスピリン、アミノピリン併用によるこれら代謝の変動および効果を詳細に研究した。(→学会発表 114、厚生科学研究)

3. 農薬、食品添加物等の安全性に関する研究

食品添加物明パンの2年間わたるラット慢性毒性試験を行なっている。

硝酸カリウムのラットに対する催奇形性を検索中である。

4. 合成洗剤の毒性に関する研究

厚生省の合成洗剤の毒性に関する総合研究に参加し、その基礎的研究として家兎およびラットの眼粘膜および皮膚に対する影響を検討した。(厚生省報告)

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 本 間 尚 治 郎

概要 本年度の栽培試験は、センキュウ、トウキ、ケシ、シャクヤク、ゲンチアナ・ルテア、ヤクヨウニンジン、オウレン、ハナトリカブトについて、試作として、キハダ、アミガサユリ、エゾエンゴサク、カンゾウ、ダイオウ、チクセツニンジン、ハマボウフウ、ミシマサイコ、ムラサキ、ボタンについて行なった。本年は積雪が多かったために融雪期は平年にくらべて約半月おくれ 4 月 30 日であった。したがって耕起始は、5 月 7 日となり春期の播種作業と、第 1 回中耕除草の管理作業がかさなって、適期に作業をすすめるのに苦心した。また雪圧のために、融雪直後の圃場の状態は極めて不良で、土壌表面が固結し発芽に支障を来した。秋播したゲンチアナ・ルテア、ムラサキ、セネガ、ハナトリカブト、ヤクヨウニンジン、ダイオウ等は発芽しなかったり、萌芽が極めて不良であった。6 月 27 日より約 1 カ月降水なく圃場はかんばつ状態となり、種類によっては影響をうけた。それに反し、9・10 月は降水曇天の日が多く、特に 10 月は雨が多くて、収穫・播種作業に支障を来した。

業務成績

1) 系統保存および展示栽培

栽培試験、試作以外のもので、そのうち主なるものは、カノコソウ、セネガ、ハトムギ、ベニバナ、アミガサユリ、ニンニク、カミツレ、コウホネについておこなった。

2) 標本園

見学者のための展示および新しい実験材料の増殖を目的として、現在約 500 種を栽培管理しているが、本年は、メグスリノキ、タムシバ、ホオノキ、シャクナゲ、トチノキの薬用樹木を導入した。また伊豆薬用植物栽培試験場より、ベニノキ、パンノキ、タマゴノキほか 57 種の熱帯植物の分譲を受け、温室植物の充実をはかった。

3) 種子交換

薬用資源開発の目的で、国内外より種子交換を行っているが、本年の実績は次のとおりである。

入手 国内 59 件 延べ 111 種

国外 34 件 " 253 "

分譲 国内 40 件 延べ 133 種

国外 95 " " 554 "

4) 薬用植物調査

本年実施した調査のうち、主なるものは、和寒町、下川町、名寄市、留萌市におけるヤクヨウニンジン(1 年生～4 年生)の生育調査、および道内各地のキハダの自生木調査ならびに、検体を採集し、性別、部位別、年令別の調査をおこない、ベルベリン含量については、目下調査中である。

5) 栽培指導

本年は約 2,900 名の見学来場者あり、それぞれ案内、栽培法について指導した。また、名寄周辺、および富良野地方、北見地方の実際栽培農家の現地指導を実施した。このほか講習会等に出席して、薬用植物の栽培法について講義した、そのうち主なるものは、北海道主催農業改良普及員専門高度化研修会で生薬栽培について、北海道本草研究会主催、キハダの採集調製について講演と実演、農業気象学会北海道支部主催、寒冷地の薬用植物について講演したことである。

研究業績

1) センキュウの栽培試験

目的：収穫時期と生育、収量、品質の関係を明らかにし、収穫の適期を知る。

内容：1974 年 9 月 17 日から 10 日おきに計 5 回収穫して比較検討した。生育は 9 月 27 日が最高となり漸次、低下する傾向を示したが、草丈、株張りについては、天候や畑地の条件により多少変化がみられた。根茎の収量については、根茎数、根茎重(生重、風乾重)ともに 10 月 28 日収穫のものが最高となっている。次に品質についてみると、大粒が多いのは、10 月 28 日収穫のもので、その他のものは大差がなく大粒はいずれも約半量であった。中、小粒の多いのは 10 月 7 日収穫のものであった。なお成分については目下検討中である。

2) トウキの栽培試験

目的：収穫時期と生育、収量、品質、成分の関係を明らかにする。

内容：'73 年秋定植したトウキについて、'74 年 9 月 17 日、9 月 27 日、10 月 7 日、10 月 17 日、10 月 28 日の 5 回掘り上げ、調査検討した結果、草丈は 9 月 17 日を最高とし、漸次低くなり 10 月 17 日が最低となっている。葉柄数は一定の傾向が認められなかった。株張りについては 10 月 7 日を最高とし、収穫時期のおくれと共に漸次低下する傾向を示した。根収量については、10 月 7 日以降が地下部の生育収量を増大させる傾向を示した。収穫時期と葉重、根重との関係をみる

と9月27日以降から両者の差が大きくなる傾向がある。すなわち、葉重は漸次低下し、根重は時日の経過と共に上昇し、10月28日が最大となる。品質についてみるに、根頭部、第一次分岐根、ひげ根ともに収穫時期のおくれと関係があり、9月17日が最小、10月28日が最大で最も重いことが認められた。(→学会発表118)

3) ケシの栽培試験

目的：当地方におけるケシの生育、収量を知るとともに、当地方に適した品種(系統)を選定するための基礎資料を得る。

内容：慣行法によって一貫種、トルコ5、P-1,099Kについてあへんの収量を調査結果。6m² 当あへん収量は、3種平均で8.0g 最高はトルコ5の8.3gであった。また圃場灌水によっていづれの品種も草丈が高くなり、あへん収量が高くなる傾向がみられた。3種平均で6m² 当収量無灌水区7.3gに対し、灌水区は8.7gであった。系統の中では巨大型果2-10が注目された。

4) シャクヤク栽培試験

目的：当場で育成した実生苗を用いて、定植後満5年経過したシャクヤクについて、次の方法で選抜し、生育、収量、品質、成分について調査する。

内容：次のような基準で選抜した結果。

開花期別——早, 中, 晩

花弁色別——白, 赤, 桃

花弁数別——一重, 八重

イ. 生育は概して「白, 一重, 早生」「赤, 一重, 中生」「桃, 一重, 中生」が良好で、根収についても同じような傾向を示した。

ロ. 増殖率(株分)は「白, 一重, 早生」が最高で6倍, 他は4~5倍であった。

ハ. TR率は「桃, 一重, 中生」が最高で455, 最低は「赤, 八重, 中生」で242であった。

5) キハダの栽培試験

目的：種子検定済の次の6系統について発芽状態を知らんとする。

内容：調査に用いた種子は次のとおりである。

A 北海道(当別, 青山) 自生

B 東京都(小平, 中島) 栽培

C 鳥取県(下石見) 栽培16年

D " (花 口) 自生15年

E " (") " 50年(秋採種)

F " (") 植林7~8年(口)

発芽始は播種後約1ヶ月を要し、発芽最盛は系統により多少異なるが発芽始より2~5日後であった。発芽の

皆無はAとEの2系統で、発芽率の最も高かったものは、Cの97%, 次でBの, 94%, 最低はFの6.8%であった。

6) ボタンの栽培試験(→学会発表119)

目的：5系統22品種のボタンについて増殖し、比較検討する。

内容：'69年秋に定植したボタンを、'73年に掘り上げて株分け、あるいは挿木した次の5系統22品種について調査した結果。

区分、白系 白播竜, 玉簾, 連鶴, 今桃黄,

紫系 島の司, 八雲紫,

桃系 八重桜, 玉芙蓉,

黄系 金見

絞覆輪系 鎌田錦

イ) 株分5系統10品種, 挿木2系統2品種の活着をみた。

ロ) 生育については、一般に白色系, 紫系が良好で、根系の発達も大体同じような傾向を示した。品種については、玉簾, 連鶴, 島の司が、他に比し優れているようである。

春日部薬用植物栽培試験場

場長 小島 康平

概要 本年度はケシの栽培およびアルカロイド抽出に関する試験ならびにトウキ, センブリ, ハブソウ等の栽培試験を行ない、ステビア属については広島大学薬学部と共同で同属各種植物の成分比較を行なうため、資料植物の栽培および生育特性の調査を行った。

種子交換は、入手70件, 延べ約400種, 配布100件, 延べ約350種であった。また種子交換用の野生植物の採種と調査を埼玉, 栃木, 茨城, 千葉の各県9カ所で行ない現在約400種の種子を保管中である。

5月9日伊豆沖大地震のため伊豆薬用植物栽培試験場が被害を受けるという不幸に見舞われたので6月24日~27日の4日間、災害復旧の応援のため、2名出張させた。

アヘンの世界的不足の緩和対策の一環として1972年より国連の麻薬部が中心になり、ボタンゲシに関する専門家会議が毎年行なわれているが、1974年はアメリカ農務省の農業研究所(メリーランド州)で第3回専門家会議が行なわれ、日本代表としてはじめて西室長が出席しその席上、各国代表より我が国に対し、ボタンゲシの栽培および成分に関する研究協力の強い要請

があったので、当场で手持ちのボタンゲシー品種、および国連より入手した種子一品种について栽培および特性調査の試験を開始した。

研究業務

1) ケンの栽培試験

目的：直接抽出の方法と栽培法の確立および耐寒性系統の検定

内容：昨年に引き続き栽植密度の相違が生育・収量におよぼす影響について切傷区（1アール当たり 728 株）、慣行区（1アール当たり 773 株）、密植区（1アール当たり 1,688 株）の3区を設け、各部位の果実数、果実重、葉面積について比較した。

個々の朔果重は切傷区において最も大きい、株当たりの朔果重は慣行区において最大であり、単位面積当たりの朔果収量は昨年と同様密植区が最高を示した。

さらに収穫期を異にした場合（5月27日、6月3日、6月10日の3回）の収量を比較したところ、各区とも収穫期が遅いほど分枝の果実は大きくなったが、モルヒネ含量が急激に減少したり、枯死株が増加し、単位面積当たりのモルヒネ収量が減少するので、5月27日の切傷開始時期頃が収穫適期と推察される。また、北海道、春日部、和歌山3地域の生育、収量について比較検討した。それによると春日部と和歌山はほぼ同様な傾向がみられたが、北海道は生育・収量とも著しく劣り、朔果の収量では春日部の3分の1程度であった。（衛試報告 92、厚生省麻薬課へ報告 49年8月）

耐寒性系統の検定は和歌山試験場で保存育成している 61 系統の種子を供試し、各系統につき 10°C、15°C、20°C、25°C、30°C の5区を設け、発芽勢、発芽率、胚軸、幼根長を調査した。結果を総括すると、一貫種系の発芽および初期生育の適温は 15°C~20°C であり早生系はそれより低く、アフリカ、インド系は一貫種系より高いところに適温域がある。今回供試した61系統中、初期生育適温域が一貫種系より低い系統として早生系の5系統、耐寒性系の6系統が得られた。

2) トウキの栽培試験

目的：短期栽培（1年）の可否を検討するため。

内容：今年度は第一段階として低温・水浸処理効果、異なった温度および水分条件下における吸水速度、水耕法（春日井氏液畑作用）による肥料反応について試験を行なった。

低温・水浸処理の効果は、無処理に比べ発芽日数が短かく発芽率も高く、10°C では30日以内に発芽が認められ、40°C の温湯処理では発芽しなかった。

種子の吸水は温度により多少遅速はあるが、いずれの温度条件下でも短時に吸水を終了する傾向がみられた。肥料反応は半量区と標準区がほぼ同様な生育を示した。これに対し倍量区は劣り、気温の下る時期に枯死が目立った。

3) センブリ

目的：畑地における栽培の可能性を調べる。

内容：ジベレリンの発芽に対する影響を調べた。その結果、対照区に比べ 50~100 ppm のジベレリン処理を長期間行なった場合発芽の促進が認められ、高濃度処理区では発芽しなかった。

野生地数カ所の土壌を採取し、pH、三要素腐植含量、土性について比較したが一定の傾向はみられなかった。pH は 4.5~6.0、土性は砂土か砂壤土で腐植含量は比較的高い所に分布しており、N、P、Kの含有量および微量元素は非常に少なかった。

4) ハブソウ

目的：品種の育成

内容：昭和49年4月24日に播種し、同年9月10日の収穫時、特に開花、結実の遅い晩生系統を2アール中、11株発見し分離した。翌年選抜した早性、中性とともに特性調査を行なったところ、全生重、主茎長、主根長、分枝数、子実数、子実重量とも晩生が最大で、中生がこれに次ぎ、早生が最も小さかった。しかし収量を考えると完熟子実の多い早生が最もすぐれている。晩生は未熟子実が多く、収穫時期が遅くなると腐敗する莢や種子が増加するため収量も低下した。

伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 宮 崎 幸 男

概要 本年度は異例の事態として5月9日に伊豆沖地震が発生し、当场でも温室、送湯施設、水槽、宿舎などの諸施設のほか、温室内植物、植木鉢、種子標本類、硝子器具、薬品などの物品にも多大の被害をうけた。このため年度内に予定していた各種業務にもかなりの支障を来した。

人事関係では大野清事務官が8月1日付けで本所会計課に配置換えとなった。

主な業務として下記の研究業績のほかにつぎのような事項があげられる。

1) 系統保存および展示栽培

従来と殆んど同じく主としてつぎの植物を対象とした。

コカ、ラウオルフィア、ヒブラウレア、ジオスコレ

ア、タマサキツツラフジ、ユーカリ、サンビロート、クミスクチン、ムラサキオモト、レモンガラス、シトロネラ、パチヨリ、ゼラニウム、

なお温室内標本植物のなかでチョウジが発芽後10年目で開花、結実し、種子はとり播きして100%近い発芽がえられた。本植物の開花、結実には日本ではこれが最初で貴重な事例といえる。

2) 野生および栽培植物の調査研究

野生植物については主として伊豆地域で6種の採集調査と、交換用種子46種の採集を行なった。栽培植物では主として当場のものから交換用種子37種を採集した。

また薬用植物栽培の現地調査として兵庫県山南町におけるオウレンを主体とした薬用植物栽培の実態について調査した。

3) 種苗交換

概要はつぎの通り、

受入れ	国内 19 件	延べ 65 種
	国外 6 件	延べ 55 種
分譲	国内 37 件	延べ 197 種
	国外 6 件	13 種

研究業績

栽培試験

1) ウコン

目的：栽培法の確立

内容：種芋の種類と植物の生育、収量との関係については場試験を行なった。供試系統はインド No.2で、前年度株のまま掘上げ貯蔵しておいたものを芋の令により種芋、丸芋、長芋の3部位に分け、個々の芋を分離して株ごとに全部の芋を用い本年度の種芋とした。

前年度の種芋を使用した場合種芋は殆んどくさっており、まれに生きているものもあったが、これらより新芋を形成したものは全くみられなかった。したがって旧種芋を再び種芋として使用することは全く不適であることが確認された。

丸芋では40g以上の大きいものでは増殖率が低いのに対し、約20gおよびこれ以下の比較的小さいもので増殖率が大きく、かつ1株当たり芋の収量も高い結果がえられた。

長芋では30g以上の大きいものから2g前後の小さいものまで大きさの範囲は広がったが、増殖率についてはどの大きさのものでも変異が大きく種芋の重量と増殖率との関係を明らかにすることは困難であった。ただ10g以下の比較的小さい種芋で増殖率が一般的に高いようにも思われたが、これらでは1株当たり芋の収量は著しく低かった。

2) ミシマサイコ

目的：暖地栽培の立場からの栽培法の確立

内容：i) 土壌水分と植物の生育、収量との関係について48年よりポット試験を行なった。水水分の区別はつぎの5区、第1区全期間90%一定、第2区生育期90%、冬季50%、第3区全期間70%一定、第4区生育期70%、冬季50%、第5区全期間50%一定。

収根量は第5区で最も高く、第4区これにつぐが収根量は前区の約1/2にすぎなかった。以下第3区、第1区、第2区の順に徐々に低下した。このことから生育期の土壌水分が70%以上の比較的多湿の場合は冬季50%に程度に低下しても、植物の生育に対する好影響は期待しがたく、同時に本植物の生育には50%前後の比較的低い土壌水分が適することが確認された。

ii) 光線の強さと植物の生育、収量との関係について48年よりポット試験を行なった。光線の強さの区別はつぎの3区、第1区無し光、第2区金網一重光、第3区金網二重光。これら3区の光線の強さの比率は約100:60:30。

地上部の生育は第3区でかなり徒長気味で重量も他の2区に比べてやや大であったが、根の収量は第1区が最も高かった。第2区と第3区では収根量はやや低下したが、両区間の差は殆んど認められなかった。

3) ズボイシヤ

目的：スコボラミンあるいはヒオスチアミン含量の高い優良系統の育成および栽培法の確立。

内容：myoporoides (M) と leichhardtii (L) ののは場栽培2年生植物の生育調査を行なった。

LはMに比べて枝の伸長ははるかに大であるが、葉の着生がまばらで、葉幅は狭く、かつ枝の先端部を除き落葉が著しい。したがってLはMに比べて収葉量が劣る傾向がみられた。

耐寒性はLはMに比べてかなり強いことが確認されたが、両種とも夏の時期に枯死するものが多く、MはLに比べ枯死率がやや高い傾向がみられた。

試作

1) ステビア

目的：甘味資源開発の立場から栽培法の概要を明らかにする。

内容：本年度は年2回の収穫を予定していたが諸種の都合により8月1日の年1回の収穫となった。1株当たり収量は風乾重でつぎの通り、全地上部110g、葉43g、枯葉6g、茎63g。

2) シンナモムム

目的：漢薬原料ないし香辛料に適する主な種類の栽培

培法の概要を明らかにする。

内容：cassia の 4 年生植物を露地に定植し生育状態とくに越冬について調査した。

6 月中旬に定植し、12 月中旬に一部は上面と西地側面をよしずで囲い、一部はビニールトンネルにより防寒した。冬季の最低気温の平均は例年よりやや低くめであったが、全個体容易に越冬した。両区とも葉は若干寒害をうけ、よしず区では茎の頂部が一部寒害で枯死したが、ビニールトンネル区では茎部の寒害は全くみられなかった。

3) ハカマオニゲシ

目的：栽培法の概要を明らかにする。

内容：春日部試験場より配布された産地の異なる 2 種の種子を用い、温度条件の異なる場所で発芽試験を行ない、さらに幼苗の生育について大ざっぱな比較を行なった。

11 月上旬播種の場合発芽は僅かに加温したビニールハウスで最も良く、高温の温室では逆に最も悪い傾向がみられた。幼苗の生育も高温の温室では極めて悪く、病虫害の発生が甚だしかった。3 月ころには無加温ビニールハウスの比較的低温の場所で病虫害も少なく生育良好の傾向がみられた。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 大 野 忠 郎

概要 昭和 49 年度の気象状況は前年の秋より引き続いた 1 月における降水不足を除いて、その後は概して順調であった。特にケシの開花、採汁の時期に当る 5 月は好天に恵まれ、気温、降水量および日照時間等もケシ栽培に好適し、あへん収量多く豊作の年であった。大麻、オウレン等のその他の試験植物および標本薬用植物も比較的生育良く順調に経過した。

業務成績

栽培試験以外の業務は次のようであった。

1. 薬用植物栽培質疑応答 12 件
2. ケシその他薬用植物種苗分譲 8 件
3. 植物調査採集採種 近隣の和歌山県日高郡内で 4 回実施、計 75 種採集
4. ケシ作況調査 岡山県 1 回
5. ケシ耕作者栽培講習会 2 回
和歌山県、岡山県各 1 回
6. あへん法違反ケシ科植物鑑定 2 件

研究業績

1. ケシに関する試験

目的：優良品種の育成、栽培法の改善、栽培技術の保存ならびに生育上の基礎的資料を得ようとする。

内容：次の 11 試験を実施し、また過去の試験成績に基いて、生産力におよぼす気象要因の影響について研究した。

i) 品種および系統の保存、特性調査

目的：各地の品種、系統を栽培し、その特性を調査し、これを保存し、品種改良の材料に供用する。

内容：セチゲルムは採汁不能であったが、その他の全品種採汁、採種し、保存することができた。中共産の系統は今年もあへん収量多くモルヒネ含量高く、注目すべき系統であることを示した。また種子収量とあへんおよびモルヒネ収量との間に正の、種子収量とあへん中のモルヒネ含量との間に負の相関が認められた。

ii) 系統選抜試験

目的：栽培地より観察により優良な系統を選抜し、その生産力を検討する。

内容：本年度は採汁期間中の天候きわめて良く、あへん収量は多かったが、モルヒネ含量はやや低く、したがってモルヒネ収量は平年なみであった。種子収量とあへんおよびモルヒネ収量との間に正の相関が認められた。

iii) 一貫種個体選抜系統検定試験

目的：一貫種の個体選抜により得た系統につきその生育、生産力を検定する。

内容：あへん収量は平年なみであったが、モルヒネ含量はやや低く、そのためモルヒネ収量は平年よりやや少なかった。25 系統中 4 系統が一貫種に比しあへん収量多く、また 5 系統がモルヒネ含量が高かった。

iv) 巨大蒴果型育成交配系統検定試験

目的：篇平型系統の一貫種との交配によって得た中間型の球状巨大蒴果の系統につき、その生育、生産力を検定する。

内容：あへん収量、モルヒネ収量共に平年なみであった。

v) 早生型育成交配系統選抜検定試験

目的：愛知系統と一貫種との交配により得られた系統につき、その分離状況、生産力を検定し、早生で多収の系統を育成する。

内容：開花期および採汁期における気象条件に恵まれて乳液の分泌多く、あへん収量、モルヒネ収量共に平年に比し多く、モルヒネ含量も平年なみであった。昨年度一貫種に比し統計的にあへん収量の多いことのわかった AW × I 4-53-6 と AW × I 6-3-1-1-1 の 2 系統は本年度もあへん収量多く優良系統であるこ

とを示した。また種子収量とモルヒネ収量との間に正の相関が認められた。(一部衛生試報 93)

vi) 耐病性育成交配系統選抜検定試験

目的: トルコ系統と一貫種との交配により得られた系統につき耐病性, 多収の系統を育成する。

内容: 開花期間および採汁期間中の天候に恵まれ, 試験開始以来最高の収量であった。一貫種に比し統計的にあへん収量の多いもの 3 系統, モルヒネ収量の多いもの 1 系統を見いだした。

vii) 耐寒性育成交配系統選抜検定試験

目的: トルコ系統と一貫種との交配により得られた系統につき耐寒性, 多収の系統を育成する。

内容: 開花期および採汁期の天候良く, 液汁の分泌多くきわめて豊作であった。モルヒネ収量において 24 系統中 18 系統が一貫種に比して優れており, 特にそのうち 6 系統は 10 a 当りモルヒネ 500 g 以上 (最高は 593 g) の多収を示した。

viii) 採汁時期試験

目的: 採汁時期の変化が収量, 品質におよぼす影響を調査し, 採汁の適期を判定する。

内容: 本年度は天候に恵まれ, あへんならびにモルヒネ収量は可なり早い採汁開始期の区 (開花後 6 日) から可なり遅い区 (開花後 21 日) にかけて多く, 採汁適期が可なり長かった。

ix) 採汁方法試験

目的: 切取法と宵切朝掻法を比較し, 労力関係を考慮し, 再検討する。

内容: 本年度は採汁時期に圃場に浸水多く, 土壤条件が悪く, 乳液の分泌甚少く, 結果は明瞭でなかった。

x) 農薬の種類に関する試験

目的: 病害に対する防除法として現在市場にある代表的な農薬を使用して, その効果を比較する。

内容: ボルドー合剤 (8 斗式), トップジン (1, 500 倍), ジュネブダイセン (700 倍), マンネブダイセン (800 倍), ダコニール (600 倍) について行なった。葉枯病の病斑発生程度は各処理区はいずれも無処理区に比して少なかった。薬害はボルドー合剤区にやや認められた。

xi) 直接抽出に関する試験 (春日部試験場と共同)

目的: ケン栽培の省力化を図るとともに, アヘンアルカロイドの生産を効率的に行ない, その供給を確保する。

内容: 10 a 当り風乾蒟蒻 (50 cm の果梗付) 175.5~183.0 kg を得た。

xii) ケンの生産力におよぼす気象要因の影響に関する研究

る研究

目的: 気象要因とケン生産力との関係を明らかにし, 栽培上の資料とする。

内容: 1955 年から 1974 年までの 20 年間 (日照時間は 1959~1974 の 16 年間) の気象要因とケンの生産力 (あへん収量, モルヒネ含量, モルヒネ収量) との間の相関を検定した。5 月における気象要因 (降水量, 平均最高気温, 平均最低気温, 平均気温較差, 湿度, 日照時間, 雲量) とケン (一貫種) の生産力との間に有意の相関が認められる。

2. 大麻に関する試験

目的: 各地より収集した系統につき, 当地方における生育状況, 形態などを調査し, 鑑定の資料にする。

内容: 一般に生育順調であったが, 収量はあまり多くなかった。雌株は雄株に比し収量はあまり多くなかった。雌株は雄株に比し収葉量が多い傾向が見られた。

3. ミシマサイコに関する試験

目的: 地方における栽培法を確立する。

内容: 除草剤として使用したシマジンが不適で枯死するものが多かった。

4. オウレンに関する試験

目的: 当地方における栽培法を確立する。

内容: 育苗中のものは寒冷紗のしゃ光率 (40%) がやや不足と思われた。林間試作のものは生育良好である。

5. 標本薬用植物栽培

目的: 代表的薬用植物を栽培し, 一般に展示し, 種苗を育成し, 各種の試験の材料に供用する。

内容: 熱帯, 亜熱帯産 37 種, 温帯産 156 種を栽培し, いずれも生育順調である。

種子島薬用植物栽培試験場

場 長 高 城 正 勝

概要 本年度の業務は栽培試験として, ウコン, ミシマサイコ, ズボイシア, ガジュツおよびハカマオニゲシで, 試作栽培はステビア, タイマ, 台湾産イノコズチ属植物, 系統保存および展示栽培としては *Rauwolfia* 属, コカ, キナ, ニッケイ属, クミスクチン, レモングラス, シトロネラ, パチュリ, ウィタニア・ソムニフェラ等について行なった。

交換用種子および野生植物の採集調査は, 島内全域および沖永良部島において実施し, 54 種を採集した。

ミシマサイコの栽培熱が高まり, 鹿児島県内 4 箇所, 宮崎県内 1 箇所から栽培指導の依頼を受けたので現地指導を行なった。

ガジュツ栽培の講習会にも度々出席し、指導を行なった。

研究業績

栽培試験

1) ウコン

i) 種いもの大小と収量について

目的：経済的植付量を知り、栽培法の確立。

実績：試験区は種いもの1個重量20～160gの区を10区設け、3月23日に2千分の1aワグナーポットに植付け、50年1月6日に収穫した。

増殖率は30g区が3.28倍で最高を示し、以下20, 40, 50, 80, 100, 120, 140, および160g区の順で、大いも程低率を示した。経済的植付量は30～60gが適当であると考えられる。

ii) 植付時期に関する試験

目的：植付けの適期を知り、栽培法の確立。

実績：3月1日から6月15日まで15日目毎に植付けた。試験区は8区とし、50年1月16～30日に収穫した。

1株当りの平均収量は3月1日区が148.4g、同15日区が161.5g、4月1日区が101.5g、同15日区が110.2g、5月1日区が89.9g、同15日区が62.7g、6月1日区が92.8g、同15日区が66.7gを測定した。

種子島における植付け適期は3月中が最も望ましく、遅くとも4月15日までには終わるようにしたい。

2) ミシマサイコ

i) 2年生植物の収量

目的：2年生植物の収量を知り、種子島における栽培法の確立。

実績：前年度の栽培株から採集した種子を48年2月21日に箱播きし、同年4月に定植した。長さ10mのは場に畦幅60cmとし、10×10cmの2条千鳥植え、肥料は基準量を追肥した。収穫は50年1月11日、乾燥根は2月15日に秤量した。

植付本数は198本であったが、欠株率が40.1%であったので118.7本を収穫した。欠株の原因は病害虫によるものか、気象又は土壌によるものか不明である。1/17a当りの生体主根重は782.5g、周乾燥主根重が366.0g、10a当り乾燥主根収量は62.22kgであった。

ii) 直播および移植栽培における摘花試験

目的：栽培法の確立

実績：直播区1a当り100gの種子を49年3月6日に畦幅60cmに播種した。試験区の面積は1/2aとし、土壌は客土した砂質壤土で、肥料は基準量の

1/2を基肥に、残りは2等分して6月1日と7月31日に追肥した。

移植区49年1月30日に箱蒔きし、3月下旬仮植した苗を5月29日に畦幅60cm、株間10cmの2条千鳥に定植した。肥料は基準量の1/2を5月27日に施し、残量を2等分して6月11日および7月31日に追肥した。

摘花は直は区が8月22日から、移植区は7月31日から適宜実施した。

移植摘花区は欠株率が13.1%、同放任区は12.1%を示した。移植摘花区の10a当り乾燥主根重は51.799kg、同放任区は34.323kgであり、直播摘花区は23.562kg、同放任区は23.474kgであった。乾燥歩留りは46.73%であった。

iii) 肥料試験

目的：栽培法の確立

実績：49年1月9日に箱蒔きし、ビニールハウス内で育苗したものを、5千分の1ワグナーポットに同年4月1日に定植した。10区2連制とし、肥料は成分量として各0.4gを基肥とした。

収穫は50年1月7日に行い、風乾根重NPK区は11.44gで最高を示し、以下NP区が6.69g>NK区3.46g>P区2.63g>PK区2.35g>N区2.21g>2N区1.6g>O区1.17g>K区1.01g>4N区0.99gで窒素4倍量区が最低を示した。

種子島の土壌では磷酸および窒素質肥料の肥料が大きく左右し、ミシマサイコに対しては特に磷酸肥料の施用が高収量を得るものと考えられる。

3) ズボイン

i) 3年生植物の生育および収量

目的：南西諸島における栽培法の確立

実績：47年6月に当場の母樹から採種した種子を同年7月28日に箱蒔き育苗し、2回仮植後、48年4月2日に定植した。その後48年12月にNo.1～No.3の3樹を葉のみ採り、49年5月13日に追肥した。

本年は個体番号No.1, 2, 3, 4, 14, 15, 17および21の8個体を11月7～21日に収穫した。収穫方法は、No.1は48年12月に摘葉し、本年も葉のみ摘み取った。No.2は主幹を地上50cmで切った。No.3は主幹を地際で切った。No.4はNo.1と同様の方法。No.14は主幹を地上1mの個所で切って採葉。No.15は主幹50cmの個所で切り、下部の枝葉は残した。No.17は地上1mの部位で切り、その下部の枝葉は残した。No.21はNo.1と同一方法にした。

乾燥葉重はNo.1が1,232g、No.2が1,310.6g、No.3が511.7g、No.4が380.5g、No.14が

1,403.5 g, No.15 が 965.8 g, No.17 は 622.3 g, No.21 が 616.5 g であった。

4) ガジュツ

i) 除草剤の殺草効果試験

目的：除草作業の省力化

実績：供試した除草剤および稀釈濃度は次のとおりである。

a. シマジン水和剤	0.1%
b. デュボンハイパーX水和剤	0.6//
c. デュボンカーメックスD水和剤	0.1//
d. クサトール水和剤	3.0//
e. スタム乳剤	1.0//
f. グラモキソン乳剤	0.2//

試験区の面積は各区共 1/10 a で、特に雑草の多い圃場を選び、49年4月11日に48個の種いもを植付けた。種いも1個の重量は 98.2~98.5 g を用い、除草剤の散布は4月17日と6月6日の2回実施した。

a. シマジン水和剤区メヒシバには無効でハマスゲには若干の効果が認められた。増殖率は2.366倍であった。

b. デュボンハイパーX水和剤区はイネ科（主にメヒシバ）、カヤツリグサ科（主にハマスゲ）、ナデシコ

科（主にオオツメクサ）、トウダイグサ科（主にコミカンソウ）、タデ科（主にオオイヌタデ）、マメ科（主にヤハズソウ）、キク科（主にセンダングサ）、その他ゴマ、カタバミ、ホオズキ等に対して著しい殺草効果が現われたが、薬害甚だしくガジュツも完全に枯死した。

c. デュボンカーメックスD区はイネ科およびカヤツリグサ科に効果が見られ、又ナデシコ科、トウダイグサ科にも若干効を示し、収量は 328.4 g, 増殖率は 3.341 倍を得て最高を記録した。

d. クサトール水和剤区はイネ科、カヤツリグサ科には殆んど無効であったが、他の科には効果が見られた。薬害も僅かに現われ、収量は 121.1 g, 増殖率は 1.229 倍であった。

e. スタム乳剤区はイネ科、ナデシコ科に多くの残存が見られ、ゴマ、カタバミ、ホオズキも数えられて殺草効果は認められなかった。収量は 108.2 g, 増殖率は 1.102 倍であった。

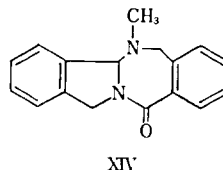
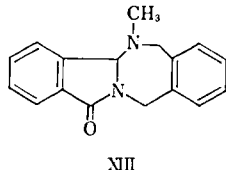
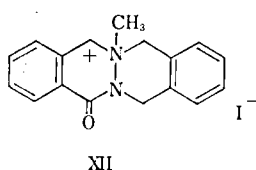
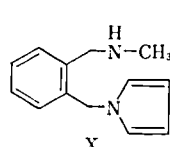
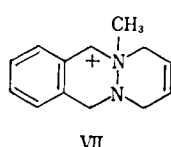
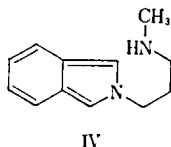
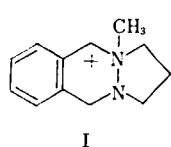
f. グラモキソン乳剤区は殺草効果は低く、各科共残存が数えられた。収量は 183.8 g, 増殖率は 1.868 倍であった。

1 **Studies on Fused Hydrazines. IV. Some Rearrangement Reactions of 4-Methyl-2,3,5,10-1H-pyrazolo [1,2-b] phthalazinium Iodide and Related Compounds to N-Aminoalkylisoindole or N-Aminoalkylpyrrole**

Akitada NAKAMURA and Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 22, 2142 (1974)

When heated with potassium t-butoxide (t-BuOK), 4-methyl-2,3,5,10-tetrahydro-1H-pyrazolo [1,2-b] phthalazinium iodide (I) gave 2-(3-methylaminopropyl) isoindole (IV), while 5-methyl-1,4,

6,11-tetrahydropyridazino [1,2-b] phthalazinium iodide (VII) gave 1-(2-methylaminomethylbenzyl) pyrrole (X) on heating with t-BuOK and also with sodium methoxide (CH_3ONa). Analogously, 13-methyl-5-oxo-5,7,12,14-tetrahydrophthalazino [2,3-b] phthalazinium iodide (XII) reacted with CH_3ONa to give 13-methyl-5,7,12,13a-tetrahydro-13H-isoindolo [2,3-b] [2,4] benzodiazepin-5-one (XIII) and -7-one (XIV). These reactions were interpreted to proceed by the initial abstraction of α -benzyl or α -allyl proton.

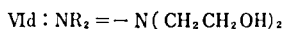
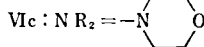
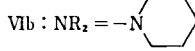
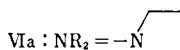
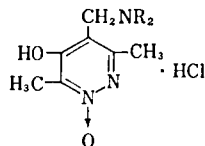
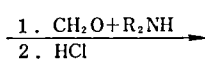
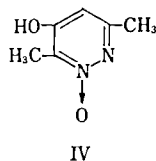


2 **The Mannich Reaction of 3,6-Dimethyl-5-hydroxypyridazine 1-Oxide**

Shozo KAMIYA and Masayuki TANNO: *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 23, 923 (1975)

3,6-Dimethyl-5-hydroxypyridazine 1-oxide (IV) reacted with formalin and a secondary amine

such as pyrrolidine, morpholine or 2,2'-dihydroxydiethylamine to give the corresponding 3,6-dimethyl-4-alkylaminomethyl-5-hydroxypyridazine 1-oxides (VIa-d). Bromination of this compound with bromine gave 3,6-dimethyl-4-bromo-5-hydroxypyridazine 1-oxide.



3 次亜塩素酸カルシウムによる有機塩素農薬の分解 (第1報) アルドリン、ヘプタクロルおよび pp'-DDT の分解経路

金田吉男, 中村恵三, 中原 裕, 慶田雅洋: 衛生化学, 20, 296 (1974)

次亜塩素酸カルシウムの有機塩素農薬に対する作用は, その塩基性と酸化性の両面が考えられる。

pp'-DDT は塩基性によって脱塩化水素された pp'-DDE を生成し, pp'-DDE も塩基性によって徐々に分解した。

ヘプタクロルは容易に加水分解されて 1-hydroxy-chlordene を生じ, それはさらに酸化分解された。

アルドリンは, 一部はデイルドリンを経て分解されるが, 主経路としてはアルコール様中間体を経て酸化分解される。

4 核酸塩基とグリシンまたはグリシルグリシンを含む混合配位子錯体

坂口武一*, 丹野雅幸: 日化, 1974, 1637

金属酵素基質錯体のモデルとして, 核酸成分およびアミノ酸またはペプチドを同時に配位子とする金属錯体の溶液状態の研究はいくつかあるが, この様な複合体を単離し, その性状について検討した報告はいまだない。そこで著者らは pH 中性付近でこれら錯体の合成を試み5種類の混合配位子錯体の単離に成功した。又, 新しい単錯体も二, 三単離し得た。これら錯体の構造を赤外吸収スペクトル, 紫外可視吸収スペクトル, モル比法などの測定から単錯体の既知構造と対比して検討した。その結果, 混合配位子錯体の構造は, 銅(II)イオンはプリン錯体の9-位の窒素 N(9)に結合し, グリシルグリシンとはアミノ基, カルボキシル基, ペプチド基で結合することを認めた。又ピリミジン配位子を含む混合配位子錯体は銅(II)-グリシルグリシン錯体の結合状態が保存されたまま, ピリミジンの N(1)または N(3)が結合に関与することが考えられる。

* 千葉大学薬学部

5 食品添加物の光分解に関する研究 (第1報) 酸化防止剤 Butyl Hydroxy Anisole (BHA) のベンゼン中における光分解

三原 翠, 近藤龍雄, 田辺弘也: 食衛誌, 15, 270 (1974)

Butyl hydroxy anisole (BHA) を低圧紫外線照射装置を用いてベンゼン中で 400 時間紫外線を照射し

た。そして, 3,3'-di-tert-butyl-2,2'-di-hydroxy-5,5'-di-methoxy diphenyl (A), 2',3-di-tert-butyl-2-hydroxy-4',5-di-methoxy-diphenyl ether (B), 3-tert-butyl-2-hydroxy-5-methoxy-diphenyl (C), 9-tert-butyl-7-methoxy-10-oxobenzo [3.4a] bicyclo [3.1.3] nonane-3-en (D) の生成を確認した。これらの構造は IR, NMR, Mass スペクトルにより同定した。

6 食品添加物の光分解に関する研究 (第2報) 油脂中 Butyl Hydroxy Anisole (BHA) の光分解について

三原 翠, 近藤龍雄, 田辺弘也: 食衛誌, 15, 276 (1974)

BHA を大豆油と豚脂に溶かし, それぞれ70と40日間日光照射したところ 3,3'-di-tert-butyl-2,2'-di-hydroxy-5,5'-di-methoxy diphenyl (A) と 2',3-di-tert-butyl-2-hydroxy-4',5-di-methoxy diphenyl ether (B) が生成した。BHA が高濃度 (5%) のときは A が B より多く生成し, 低濃度 (0.5%) のときは B が A より多く生成する。油脂の急激な変敗は BHA と光分解物 A, B が消失したのち起こった。

7 Studies on the Formation of Nitrosamines
I. Kinetical Studies on the Nitrosation of Piperidine and Morpholine

山田 隆, 山本 都, 谷村頭雄: 食衛誌, 15, 201 (1974)

ピペリジンおよびモルホリンの亜硝酸ナトリウムによるニトロソ化の反応速度を検討した。ピペリジン, モルホリンともにニトロソ化の反応速度は, 亜硝酸塩の濃度の自乗およびアミンの濃度に比例した。また SCN⁻ のピペリジンのニトロソ化の反応速度におよぼす影響について検討した。SCN⁻ の影響は pH が低いほど大きく SCN⁻ 15mM のとき pH 1.25 では SCN⁻ 無添加のときの 3.2 倍であったが, pH 3.5 では 1.2 倍であった。

8 Studies on the Formation of Nitrosamines
(II). Kinetical Studies on the Nitrosation of Creatine and Sodium Nitrite

山本 都, 山田 隆, 谷村頭雄: 食衛誌, 15, 461 (1974)

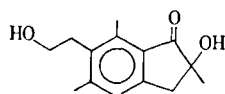
クレアチンに亜硝酸ナトリウムを反応させたときのニトロソサルコシンの生成速度を検討した。抽出およ

び薄層クロマトグラフィーにより妨害物質を除去した後, 260 nm におけるニトロサルコシンの吸収を測定して初速度を求めた. 初速度はクレアチン, 亜硝酸ナトリウムそれぞれの濃度に比例した.

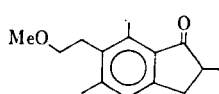
$\text{rate} = k \times [\text{creatin}] \times [\text{NaNO}_2]$ の式より k を求めたところ $0.66 \times 10^{-3} (\text{mO}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{min}^{-1})$ であり, N-メチル尿素などに比べてかなり小さい.

- 9 **Chemical and Pharmacological Studies on the Constituents of *Loranthus pentandrus***
Prakongsiri CHANTARASOMBOON, Kunitoshi YOSHIHARA, Shinsaku NATORI, Kazuo WATANABE*, Yoshiaki GOTO* and Maomoru KUGO*: *Shoyakugaku Zasshi*, 28, 7 (1974)

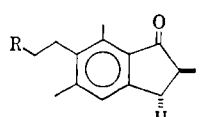
The leaves of the Thai medicinal plant were extracted with methanol and water and nine fractions thus obtained were examined for the effects on the blood pressure of anesthetized rats and on the chicken ileum smooth muscle. The water soluble fraction showed distinct hypotensive effect but it was found to be closely related to the toxicity. Some fractions from the methanol extract also showed weak hypotensive effect. Some fractions from the methanol extract were found to show ileum contracting activity and the ether-soluble fraction showed papaverine-like spasmolytic



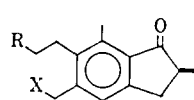
(1)



(2)



(3)



(4)

- 11 **Toxic Metabolites of *Aspergillus candidus***
Chikako TAKAHASHI, Kunitoshi YOSHIHARA, Shinsaku NATORI, Makoto UMEDA*, Koh-ichiro OHTSUBO* and Mamoru SAITO*: *Experientia*, 30, 529 (1974)

Two new toxins, tentatively named A and B, were isolated from a strain of the fungus. The toxicity to cultured HeLa cells and experimental animals was preliminary reported. The structure of the toxin A was also briefly discussed.

* 東京大学医科学研究所

effect. The mechanism of muscle contraction was also studied. Quercetin, hydrocarbons and fats were isolated and identified.

* 富山大学和漢薬研究所

- 10 **Pterosin N and O, Phenylacetylpterosin C, and Pteroside P from Bracken, *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum***

Masanori KUROYANAGI, Masamichi FUKUOKA, Kunitoshi YOSHIHARA and Shinsaku NATORI: *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 2762 (1974)

In the course of further attempts to isolate the carcinogenic principle(s) three new 1-indanone derivatives, pterosin N (1), pterosin O (2), and phenylacetylpterosin C (3) were isolated from methanol extract of air-dried young leaves of the plant. The structures were elucidated as shown below. The constituents of the rhizomes of the plant were systematically separated and several pterosins and pterosides, including a new compound pteroside P (4), were characterized. Some of the compounds isolated from the rhizomes have antipodal configurations of the indanone portion to those isolated from the leaves.

- 12 **Distribution of Tetracyclic Triterpenoids of Lanostane Group in Pore Fungi (Basidiomycetes)**

Shinsaku NATORI, Akiko YOKOYAMA and Kiyowo AOSHIMA*: '*Chemistry in Botanical Classification*' (ed. G. Bendz and J. Santeson), Nobel Foundation and Academic Press, p. 173 (1974)

The distribution was reviewed and the triterpenoids as the marker in the study of phylogeny of higher fungi were discussed.

* 林業試験場

13 Distribution of Tetracyclic Triterpenoids of Lanostane Group and Sterols in the Higher Fungi Especially of the *Polyporaceae* and Related Families

Akiko YOKOYAMA, Shinsaku NATORI and Kiyowo AOSHIMA*: *Phytochemistry*, 14, 487 (1975)

The fruit bodies of 97 species of wood-rotting fungi, mainly of *Polyporaceae* and related families were examined for the distribution of triterpenes and sterols chiefly by thin-layer and gas chromatographies. Triterpene acids of lanostane group were detected exclusively from the fungi causing brown-rot of woods, while sterols were found to occur commonly in both brown-rot and white-rot fungi. The most abundant sterol was found to be ergosta-7,22-dien-3 β -ol. The presence and absence of the triterpene acids is discussed from the point of view of fungal phylogeny.

* 林業試験場

14 ホウ酸錯塩のけい光 (第5報) サリチル酸エステル類のホウ酸錯塩の発けい光性と構造との関連について

柴崎利雄, 吉岡澄江: 薬誌, 94, 1585 (1974)

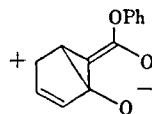
サリチル酸エステル類のホウ酸錯塩の発けい光能はアリールエステルよりアルキルエステルの方が大である。この発けい光能の差異について考察を行なった。

この差異の一つとして錯塩形成の有無が考えられるが、発けい光物質の同定の結果、両者とも錯塩を形成していることが明らかとなった。

そこで、アルキルエステルとアリールエステルの電子状態の計算を Pariser-Parr-Pople (PPP) 法および composite molecule 法によっておこなった結果、アリールエステルではアルキルエステルとくらべて図のようなベンゼン環のひずみが生じ、振動エネルギーへのエネルギー移行の確率が大きくなるために無放射遷移過程の寿命が短くなることが推定された。

この推定はホウ酸錯塩を形成してないエステル自体の発けい光能の差異を検討したものであるが、ほぼ、同様な差異がそのホウ酸錯塩にも認められたことから、エステル自体に考察された電荷移動相互作用の因子が、錯塩においても同一の効果を示しているものと考えられる。また錯塩生成による発けい光能の数百倍の増加は、カルボニル基の振動がキレート生成によっ

ておさえられるために、無放射遷移の速度が減少するからであると考えられる。



15 混合製剤の分析に関する研究 (第26報) 総合感冒剤中の phenacetin および Bucetin の比色定量法の改良法

井上哲男, 立沢政義, 橋場茂子: 衛生化学, 20, 217 (1974)

製剤中のフェナセチンおよびブセチンのニトロアルカリ法による比色定量法を確立した。

フェナセチンおよびブセチンを硝酸・酢酸, 0.1% 亜硝酸ナトリウム混液 (40:10:0.1) を加えてニトロ化し、さらに水酸化ナトリウム液を加え 60° で 30 分間加熱し、冷後生成したニトロフェネチジンをクロロホルム抽出し、435 nm で吸光度を測定し定量する。

この方法では、アセトアミノフェン・サリチルアミド、グリセリルグアヤコールエーテルなどのニトロ化体は抽出されないため妨害とならない。

16 混合製剤の分析に関する研究 (第27報) 鉄—ジビリル試験薬による総合感冒剤中のアミノビリンの比色定量

井上哲男, 立沢政義, 北条正躬: 衛生化学, 20, 223 (1974)

製剤中の鉄ジビリル法によるアミノビリンの比色定量法を確立した。

アミノビリンの還元性を利用した方法で、先づ塩化第一鉄液を加えて第一鉄となし、さらにジビリル液を加えジビリル鉄となし、525 nm で吸光度を測定し、定量する。

本法では、スルビリンおよびフェノール系薬剤が妨害となるが、予じめ四塩化炭素でアミノビリンを抽出した後定量すれば妨害とならない。

17 混合製剤の分析に関する研究 (第28報) 総合感冒剤中のブロムワレリル尿素の比色定量

井上哲男, 立沢政義, 高部秀子: 衛生化学, 20, 228 (1974)

製剤中のアセチルアセトン法によるブロムワレリル尿素の定量法を確立した。

ブロムワレリル尿素にアセチルアセトンを加え 70° で加熱し、さらに p-ジメチルアミノベジズアルデヒド

液を加えて 70° で加熱すると呈色する。これを波長 595nm で吸光度を測定し、定量する。

本法では、従来の方法で妨害となるバルビツール酸類の妨害がなく定量出来る利点がある。またカフェイン、スルピリン、チアミンなど妨げとなるが予じめアルカリ性でクロロホルム抽出によりこれらを除去して後定量する。

18 二波長分光測光法による混合製剤の定量 (第 2 報) マレイン酸クロルフェニラミン製剤の定量
井上哲男, 立沢政義, 羅美頭: 医薬品研究, 6, 150 (1975)

二波長分光測光法により製剤中のマレイン酸クロルフェニラミンの定量およびナフアゾリンの紫外部吸収スペクトル法による定量を行なった。

前者は、波長 256nm (λ_1) および 294.5nm (λ_2) の二波長で、後者は 292nm でそれぞれ定量を行なった。

19 二波長デンストメトリーによるサルファ剤および混合製剤の定量
井上哲男, 立沢政義, 李樹其: 医薬品研究, 6, 154 (1975)

スルファミン以下13品目のサルファ剤およびこれらを配合した製剤の定量法を確立した。

製剤をアセトン抽出によりサルファ剤を抽出し、Kieselgel 60F₂₅₄ を吸着剤としてトルエン・クロロホルム・氷酢酸・水 (20:20:10:0.5) を展開溶媒として分離し、二波長デンストメトリーにより紫外部吸収法でそれぞれを分離定量した。

20 ポリアミド薄層電気泳動法デンストメトリーによるベルベリン型アルカロイドの分析
持田研秀, 野口 衛: 昭和49年厚生科学研究報告

オウレン中のアルカロイドの簡易定量法を確立する目的で、ベルベリン(I)、コブチン(II)、バリマチンをポリアミド薄層電気泳動法で分離し (電解液 5 N 酢酸, 電圧 900 V, 泳動時間 3 時間), 反射蛍光法デンストメトリーを用いて I および II を定量した。市販オウレン中の I 含量は約 6%, II 含量は約 1% で、両者とも 0.3 μ g 程度の微量の定量が可能である。

21 医薬品の溶出試験方法に関する研究—pH 変化を伴う連続流出法による溶出試験法
持田研秀, 岡 恒, 植田澄子: 昭和49年度厚生科学研究報告

生体の消化管中における製剤からの薬物の溶出過程と対応させるために、in vitro の溶出試験に pH 変化を伴う連続流出法を用い、アルカリ性で溶けやすく水に難溶性の医薬品としてインドメタシンカプセル剤を選び、検討を行なった。硬カプセルは酸性側で溶解しやすく、初期の溶出には pH 1.2 の第 1 液を用い、20 分後、pH 7.5 の第 2 液で徐々に pH を変化させて、インドメタシンの溶出状態を観察した結果、一旦 pH 1.2 で飽和濃度に達したのち、pH 5.8 付近より急激な溶出が認められた。この事実から、in vivo における薬物の溶出とより良い相関性が期待される。

22 炎光光度検出器付ガスクロマトグラフによる農薬の分析研究 (第 3 報) イオウ化合物含有試料中の有機リン農薬の定量
慶田雅洋, 金田吉男, 山路 昭: 薬誌, 94, 1178 (1974)

イオウ化合物を含有する試料中の有機リン農薬を炎光光度検出器 (FPD) 付ガスクロマトグラフで分析する場合、イオウ化合物が分析を妨害する。そこでネギ、タマネギ、ニラ、ニンニクなどの含硫化合物を含む試料をもちいて、分析妨害排除の手法を検討した。

精製法としては、ネギ、タマネギ、ニラの場合、フロリジルカラムクロマトグラフィーによるクリンアップで良好な結果を示し、ニンニクの場合にはさらに薄層クロマトグラフィーにより精製した。また cross interference を低くするための FPD の操作条件を検討し、空気および水素の最適流量を選択し、P mode で有機リン農薬を定量した。本法での 5 種の有機リン農薬の添加回収率は 74~106% であった。

23 炎光光度検出器付ガスクロマトグラフによる農薬の分析研究 (第 4 報) キャプタン、ダイホルタン、モレスタンの残留分析法
慶田雅洋, 山路 昭, 金田吉男: 薬誌, 94, 1334 (1974)

炎光光度検出器 (FPD) 付ガスクロマトグラフを用いるキャプタン、ダイホルタンおよびモレスタンの残留分析法を検討した。

これらの農薬と有機リン農薬は、5% DC-200 カラムをもちいるとよく分離することができた。さらにパラチオンに対する relative response ratio を求めたところ、これらの農薬の同定がきわめて容易になった。

3 者農薬はベンゼンで抽出し、30%エチルエーテル含有 n-ヘキサンで溶出するフロリジルカラムクロマ

トグラフィーによるクリンアップ後、FPD の S mode で分析すれば良いことが見出された。本法をもちいて 9 種の野菜、果実に添加した 3 者農薬の回収率は 81~115% であった。

24 食品中の残留農薬分析法に関する研究(第14報)
農作物中の残留クロルベンジレート分析法
大槻久美子, 武田明治, 田辺弘也: 食衛誌, 15, 153 (1974)

クロルベンジレートの ECD-ガスクロマトグラフによる残留分析法を確立する目的でガスクロマトグラフ操作条件および精製法を検討した。

活性炭カラムからクロルベンジレートを含む有機塩素農薬は *n*-ヘキサン・エーテル混液 (1:4) で溶出されたが、 δ -BHC は全く溶出されなかった。

フロリジルカラムからクロルベンジレートは *n*-ヘキサン・アセトン・エーテル混液 (3:1:1) 溶出液中に、他の有機塩素農薬は *n*-ヘキサン・エーテル混液 (4:1) 溶出液中に溶出され、両者の完全分離が可能であった。

数種の果実類に添加した有機塩素農薬の回収率は良好であった。

25 食品中の残留農薬分析法に関する研究(第15報)
ECD ガスクロマトグラフィーによる玄米中の
カーバメート殺虫剤の残留分析法
関田 寛, 鈴木 隆, 武田明治: 食衛誌, 15, 219 (1974)

現在わが国で登録されている 9 種のカーバメート殺虫剤の食品中の残留分析法として、いっせいにしかも高感度に分析するために、カーバメート剤を無水トリフルオール酢酸と反応させて得られた誘導体の ECD ガスクロマトグラフィーを検討した。

検討したガスクロマトグラフィー条件下での本誘導体の最小検出量は BPMC, MTMC, MIPC において 0.006~0.008 ng, CPMC, MPMC, PHC, XMC において 0.01~0.02 ng, EMPC, NAC では 0.11~0.15 ng であった。

今回考案されたカーバメート剤の残留分析法による玄米における添加回収実験では、CPMC の 86% から NAC の 108% の範囲の良好な回収率が得られ、本法は十分実用に供し得ると考えられた。

26 食品中の残留農薬分析法に関する研究(第16報)
9種の有機リン農薬の残留分析法
井上泰幸, 福原克治, 武田明治: 食衛誌, 15,

337 (1974)

FPD ガスクロマトグラフィーによる ジクロルボスおよびジスルホトンなど 9 種類の有機リン農薬の分析法を検討した。

ジスルホトンのクデルナ・ダニツシュ濃縮器による 50° 以下での減圧濃縮溶媒としては、ベンゼンおよび *n*-ヘキサンが適当である。

アセトンからの転溶々媒としてはジクロルボスに対してベンゼンの方が *n*-ヘキサンより優れていることがわかったが、他の農薬に対しては大差はなかった。

生鮮野菜ホモジネートに 9 種農薬を添加し、今回考案した分析法の妥当性を検討したところ、62% から 96% の回収率を示し、本分析法の残留分析法への適応性が示された。

27 原子吸光法による食用タール色素中の重金属およびヒ素試験法の簡易化の試み

外海泰秀, 慶田雅洋: 日本化粧品技術者連合会誌, 9, 26 (1975)

最近の機器の発達により重金属の定量にはしばしば原子吸光法が用いられるようになり、化粧品中の重金属試験にも原子吸光法の応用が検討され始めている。その場合に一番問題となるのは試験溶液の調製法であると思われるので、試料の灰化方法および微量金属取扱上の問題点などを総説的に述べる。ついで機器による試験法の簡易化の試みとして、原子吸光法を用いて色素試験法中の重金属およびヒ素試験の簡易測定法を考案したので報告した。

28 食品中のフリルフラマイドの薄層クロマトグラフィーによる検出法について

酒井綾子, 原田基夫, 谷村顕雄: 食衛誌, 16, 123 (1975)

2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸アミド (フリルフラマイド, 以下 FF と略す) は昭和 49 年 9 月 1 日より食品添加物としての指定が取り消された。これに伴い食品中の FF の精度の高い検出法が必要となり、従来の TLC による方法に若干の改良を加えた。すなわち、従来は、食品中の *trans*-FF のみについての検出法であったのに対し、実際の食品からは *trans*-FF よりも *cis*-FF の方が多量に検出されるところから、標準溶液、展開溶媒等を検討改良し、*cis*-FF も検出可能にした。従来問題の多かったハム、ソーセージについても、強いケイ光を有する妨害物質から FF のスポットが充分分離するようにした。また、ハム、ソーセージ中のこれらの妨害物質が天然香辛料

に起因することもわかった。

29 サッカリンの試験法および高速液体クロマトグラフィーの応用

加藤三郎：食品衛生研究，24，887 (1974)

サッカリンの試験法はさきに標準法案として提示したものの試薬および標準品について一部修正し，全体の補足説明をしたうえ，さらに最近学会報告された方法を要約して紹介した。

高速液体クロマトグラフィーはこのサッカリンの分析において実用性がみとめられたので，これを契機に分析機器としての紹介につとめた。まず初歩的一般解説をしたのち，応用例としてサッカリンおよび保存料，酸化防止剤およびビタミン類，調味およびアミノ酸ならびにアフラトキシンと多核芳香族の蛍光検出に分類し，Zipax, Pharmaphase, Hitachi-Gel, Jascopack などによる分離例を文献および提供資料より引用解説したほか，ペリラルチン，バラオキン安息香酸エステル類，2-BHA, 3-BHA, BHT については ODS カラムによる実験結果を示した。

30 食品中サッカリンの試験法について (II)

加藤三郎：食品衛生研究，24，543 (1974)

使用基準に対応する試験法設定のため，前報のメチル化による GC 法に続き，トリメチルシリル (TMS) 化および重鉛末還元による GC 法を追試し検討し，これら誘導体，関連物および内部標準になし得ると思われる数種の物質の保持時間を，4 種の液相のカラムについて測定し表示した。

TMS 化は反応試薬 BSA によって簡単に良好なピークが得られるが，BSA のロットにより反応性に大差あることがわかった。また還元体は GC 上はテーリングが甚しく微量は充分なピークにならない。したがって両法も 50 ppm の使用基準に応ずる標準法としては適当でないと判断した。

ポーラログラフ法についても数種の食品からの抽出物に適用を試みた。水溶液中では 10 ppm まで定量可能であるが，食品抽出液中では食品中 50 ppm 以下の定量は困難であった。

定性法としては TLC を追試し，検出限界について判断を示した。

なお，PC および TLC の文献による各種展開剤とそれによる R_f 値を表示し，定量法についても，GC 法，比色法などの文献内容を解説して参考に供した。

31 ホウ酸の微量定量法について—冷凍むぎえびへ

の応用—

伊藤登志男，慶田雅洋：食衛誌，16，41 (1975)

冷凍むぎえび中のホウ酸・ホウ酸塩含量のクルクミンによる比色定量法について検討した。本法は通常 1000~4000 ppm のホウ酸含量のものについて適用されるが，むぎえびのホウ酸含量は少ないので方法の微量化を試み，灰化した試料を直接呈色反応にかけることにより中和回数を減じ，最終液量を小さくすることにより検出感度を 100 倍とした。輸入冷凍むぎえび 13 検体のホウ酸含量は 3.2~114.0 ppm の範囲であった。

32 冷凍エビの腐敗に関する化学的指標および ATP 関連化合物の変化について

内山貞夫，天野立爾，近藤龍雄，田辺弘也：食衛誌，15，301 (1974)

冷凍エビの鮮度判定のため pH，揮発性塩基窒素 (VBN)，トリメチルアミン窒素 (TMA-N)，および官能試験を調べ，初期腐敗の化学的指標を求めた。生エビの腐敗実験と実際の輸入冷凍エビを検討した結果，操作の簡易さの点で VBN 量 30 mg% を指標とし官能試験を含めて判定するのがよいと考えられた。さらに冷凍保存 (-23°，2年半) 中の化学的指標に著しい変化が見られないことから，初期腐敗に至る前の予測的判定を求めるために冷凍エビの筋肉内 ATP 関連化合物の変化を生エビ，腐敗エビと比較検討した。

その結果冷凍エビではイノシンおよびヒポキサンチンの増加と ATP の著しい減少が見られた。

33 チョコレートの Silver Number について

慶田雅洋：食品衛生研究，24，811 (1974)

ココアバター中の異種脂肪の存在を定量的に表現する方法として silver number を提案する。本法は Winkler の考案したものであって，けん化した油脂について硫酸マグネシウムを加えて 80° で不溶性マグネシウム石けんを除去した後，中和し，硝酸銀を加えて 20° で不溶性銀塩を調製しその量を求めるものであって，やし油やパーム核油中に存在する低級脂肪酸含量に対応するものである。

純ココアバターの silver number は約 1.1 であり，総脂肪中やし油が 5% 程度まで存在しても silver number は 2 以内に収まる。したがってココアバターの純粋性の判定に当っては silver number 2 が目安となる。試作の結果ブラックチョコレートは silver number は原料ココアバターとほとんど変わらないことを認めた。

34 カラギーナンの硫酸根および粘度試験について

伊藤淳志男, 慶田雅洋: 食衛誌, 16, 116(1975)

天然増粘剤“カラギーナン”に規格を設定する目的で, 硫酸塩および粘度の測定法について検討した。硫酸塩の試験には硫酸バリウム重量法を採用した。市販カラギーナン2検体について測定したところ, 硫酸根として 20~40% の範囲内に入ることを認めた。

粘度の試験は 1.5% 水溶液について 75° で BN 型回転粘度計および Ubbelohde 粘度計を用いて行った。両法による測定結果はよく一致することを認めた。多数の試料について測定する場合には回転粘度計の方がはるかに簡便であり, 試験法として採択するのに有利であることを認めた。市販カラギーナン2検体についての測定結果はともに 5 cps 以上であり, 有害な水分分解物は含まれていないことを確めた。粘度計の調整のために 75° で使用できる高温用粘度標準溶液の開発が望まれる。

35 食品の腐敗と変敗

慶田雅洋: 食品製造における品質管理の諸問題 (三秀書房) p. 35 (1974)

腐敗の定義, 腐敗と変敗の区別, 腐敗と微生物の関係, 腐敗微生物の分類, 腐敗の化学的パターン, 初期腐敗の鑑識, 各種食品の腐敗と変敗, 食品の保存法 (腐敗の防止) などの項目よりなる。

36 ソフトドリンクスの鑑別

慶田雅洋: 食の科学, No. 19, p. 44 (1974)

果汁 (天然果汁), 果汁飲料, 果肉飲料, 果汁入り清涼飲料および無果汁の清涼飲料水について, 果実または果汁分の測定を中心とする鑑別法について解説した。

対象果実としてはわが国で最も多く果汁等の原料として用いられているかんきつに焦点をあてて説明した。

方法としては, アミノ酸組成に基づくものについてはホルメル数, 遊離アミノ酸含量ならびにその組成比の測定, (プロリン+アルギニン)/(アスパラギン酸+アスパラギン) 比を使用する方法などがある。その他の方法としてはアンモニウム塩による偽和の検出法, フェノール化合物とリンゴ酸による鑑別法, 果皮と果肉残渣による検出法などが挙げられる。

37 Studies on *In vivo* Formation of Nitroso Compounds (I) Changes of Nitrite and Nitrate Concentrations in Human saliva

after Ingestion of Salted Chinese Cabbage

Motoo HARADA, Hajimu ISHIWATA, Yoko NAKAMURA, Akio TANIMURA and Morizo ISHIDATE*: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 16, 11 (1975)

The relationship between dietary nitrate intake and nitrite detected in human saliva was studied with a basal diet and high nitrate diet. Nitrite contents in foodstuff and in saliva were determined colorimetrically by a diazo-coupling reaction with sulfanilamide and naphthylenediamine, and nitrate contents were determined as nitrite after conversion to nitrite by passing a cadmium column. Determinations of nitrite and nitrate in saliva were carried out at intervals of 1~2 hr except at night.

When 200 g of salted Chinese cabbage was taken, the average concentrations of nitrite and nitrate in saliva increased to large quantities of 71.9 and 544.5 ppm, however, in the case of basal diet, decreased to 12.2 and 76.5 ppm, respectively.

From these results, it should be concluded that the changes of nitrite and nitrate concentrations in human saliva depended upon those contents in the diets. Furthermore, when daily secretion volume of saliva was presumed as 1,000 ml, the total amount of nitrite in saliva were 7~28 times that of the diet ingested, and it was assumed that nitrite in saliva was formed *in vivo* by the reduction of nitrate. We can not give a clear explanation for this reduction mechanism yet, but nitrite in saliva might be produced by the action of micro-organisms in alimentary tract, perhaps in mouth.

* Tokyo Biochemical Research Institute

38 Studies on *In vivo* Formation of Nitroso Compounds (II) Changes of Nitrite and Nitrate Concentrations in Human Saliva after Ingestion of Vegetables or Sodium Nitrate

Hajimu ISHIWATA, Prakai BORIBOON, Yoko NAKAMURA, Motoo HARADA, Akio TANIMURA and Morizo ISHIDATE*: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 16, 19 (1975)

The concentrations of nitrite and nitrate in saliva after taking other vegetables containing high amount of nitrate such as lettuce, spinach, and dried-cut radish were determined. The results obtained were the same as in the case of salted Chinese cabbage. Furthermore, 200 and 600 mg of sodium nitrate dissolved in 200 ml of boiled milk were taken and the amounts of nitrite and nitrate in saliva were determined. In this case, the same results were also obtained. So, it was suggested that the increase of nitrite in saliva after taking the foodstuffs containing high amount of nitrate was caused by *in vivo* reduction of nitrate.

* Tokyo Biochemical Research Institute

39 Studies on *In vivo* Formation of Nitroso Compounds (III) Nitrite and Nitrate Concentrations in Human Saliva Collected from Salivary Ducts

Hajimu ISHIWATA, Akio TANIMURA and Morizo ISHIDATE*: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 16, 89 (1975)

High amounts of nitrite and nitrate were detected in saliva which was accumulated in mouth, but only nitrate was detected in saliva which was directly collected from the ducts of salivary glands. The similar phenomena were observed during 10 hr after the ingestion of sodium nitrate.

From these results, it seemed that nitrite was not secreted in saliva, but produced newly from secreted nitrate in mouth.

* Tokyo Biochemical Research Institute

40 Studies on *In vivo* Formation of Nitroso Compounds (IV) Changes of Nitrite and Nitrate Concentration in Incubated Human Saliva

Hajimu ISHIWATA, Prakai BORIBOON, Motoo HARADA, Akio TANIMURA and Morizo ISHIDATE*: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 16, 93 (1975)

When the human whole saliva containing 11.8 ppm of nitrate was incubated at 37° for 1 hr,

these concentrations changed to 15.3 and 36.2 ppm, respectively. Potassium ferricyanide-reducing substance in saliva was also determined, but no relation between the amounts of nitrite, nitrate and the reducing substance was found. In the saliva, either heated at 100° for 10 min or filtered with a bacterial membrane filter, any change of nitrite and nitrate contents was not observed during incubation at 37° for 2 hr. However, if the filtered saliva was supplemented with the residue on a filter, the changes of nitrite and nitrate concentration was restored to the level of the unfiltered saliva.

* Tokyo Biochemical Research Institute

41 ニトロソ化合物の生体内生成に関する研究 ヒト唾液中の亜硝酸イオン、硝酸イオンについて
原田基夫, 石綿 肇, 中村洋子, 谷村顕雄, 石館守三*: 食衛誌, 15, 206 (1974)

ニトロソ化合物は第2級アミンと亜硝酸とから生成される。そこで亜硝酸塩のヒトへの供給源として唾液について調査した。ヒト唾液中に 2.2~12.1 ppm の亜硝酸塩が検出された。また亜硝酸塩の前駆物質である硝酸塩は 11.8~150.2 ppm が認められた。また昼食時に白菜漬 100 g を摂取し、その前後における唾液中の亜硝酸塩および硝酸塩の濃度の経時変化をみたところ、唾液中のこれらの濃度は白菜漬の摂取により明らかに影響される事が認められた。

* 東京生化学研究所

42 ニトロソアミンに関する研究 漬物類に含まれる硝酸根、亜硝酸根の調査

石館守三*, 谷村顕雄, 原田基夫, 石綿 肇, 中村洋子, 他30名: 昭和48年度厚生省がん研究助成金報告書

食品中の硝酸塩、亜硝酸塩の分布ならびにその含量の実態を把握する目的で、秋田、山形、宮城、長野、愛知、鹿児島等の各県衛生(公害)研究所と共に、主として各地方の漬物類について調査を行なった。

* 東京生化学研究所

43 Radioimmunoassay による 2, 5-dimethoxy-4-methylamphetamine の定量

城戸靖雅, 永松国助, 石関忠一: 薬誌, 94, 1290

(1974)

裁判化学的見地から、血清中の微量の DOM を直接定量する目的で、radioimmunoassay による微量定量法も検討し、抗体産生条件および血清中 DOM の定量条件を確立することができた。

免疫用に DOM と人血清アルブミンを glutaraldehyde を用いて縮合させ、DOM-glutaraldehyde-HSH conjugate を合成した。調製した抗原をモルモットに反復投与して、抗 DOM 抗血清を得た。

本法は、被検血清に一定量の ^3H 標識 DOM および抗 DOM 抗血清溶液の一定量を加えたのち塩析法によりグロブリン分画を沈殿、分離し、これを1回再沈殿したのち bound-DOM の放射能を測定するきわめて簡単な手法から成っており、しかも $1\sim 100\text{ ng/ml}$ の間で検量線が直線を示すことを認めた。

本定量法の DOM に対する特異性はもちろんのこと、検出感度の点からも目的を達したものと考えられる。

44 Determination of Ra-226 by Means of Measurement of Rn-222 Radioactivity with a Proportional Counter

K. KAMETANI: *Radioisotopes*, 24, 193 (1975)

For the determination of Ra-226 in environmental sample, a proportional detector was constructed and the measurement of radio-activity of Ra-226 was tested. A proportional detector was composed of a stainless steel cylindrical cathode covered with a glass tube and a tungsten wire anode situated in the center of the cylinder (900 ml in volume). When the measurement of radio-activity was carried out by use of PR gas for 1 hour, the counting rate of the background of detector was 0.25 cpm and the limit of the determination of Ra-226 was 0.1 pci.

45 Analytical Methods for Determination of Ra-226 in Soil

K. KAMETANI: *Radioisotopes*, 24, 197 (1975)

The determination of Ra-226 in soil was carried out by means of the chemical procedure and the measurement of radioactivity of Rn-222 generated from Ra-226. The procedure of chemical separation of Ra-226 was based on the coprecipitation together with barium sulfate from the solution obtained by the hydrofluoric acid, perchloric acid

and phosphoric acid treatment of soil, and the radioactivity of Ra-226 in the coprecipitate was calculated from the radioactivity of Rn-222 and its daughter nuclides, which was measured by a proportional counter.

By the above mentioned procedure, the recovery of Ra-226 from the soil sample was more than 98%.

46 土壌中の ^{210}Pb の分析法について

亀谷勝昭, 戸村加代子: *Radioisotopes*, 24, 391 (1975)

環境試料中の ^{210}Pb の分析法として、 ^{210}Pb を Pb 担体とともに硝酸溶液から白金板に電着し、 ^{210}Pb から生ずる ^{210}Bi の β 線をアルミニウム吸収板 (8 mg/cm^2) を用いて測定する方法を研究し、その計数率、 ^{210}Bi の計数効率および Pb 担体の回収率から、計算によって試料中の ^{210}Pb の放射能を求める方法を検討した。

試料からの Pb の分離は、試料を HF と HClO_4 で処理したのち、Pb をヨード錯イオンとしてメチルイソブチルケトンで抽出し、さらにメチルイソブチルケトンから 2N HNO_3 で Pb を逆抽出した。

上記の方法によると、硝酸溶液から Pb の電着の回収率は定量的であったが、土壌からの Pb の化学収率は 82% であった。しかし白金板上の Pb は、秤量型の PbO_2 として電着されるので、試料中の ^{210}Pb の放射能は、容易にその重量により補正することができた。

47 家庭用品に含有される化学物質の試験法について

大場琢磨, 中村晃忠, 小嶋茂雄, 毛利潤子: 医薬品研究, 6, 196 (1975)

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」(昭和48年法律第112号)が昭和48年10月12日に公布され、これをうけて政令第334号により規制をうけた化学物質は、塩化水素、硫酸、塩化ビニル、ホルムアルデヒドおよび有機水銀化合物の5つに指定された。そしてこれらの試験法が昭和49年9月26日に厚生省令で公布された。この基準と試験法の解説を詳細にわたって行なった。

48 衣類中の遊離ホルムアルデヒドの定量

小嶋茂雄, 大場琢磨: 分析化学, 24, 294 (1975)
衣類中に含有される遊離ホルムアルデヒドを正確に

定量するためには、抽出や発色などの操作の過程で樹脂加工剤などが酸や加熱によって分解し、ホルムアルデヒドを新たに発生するのをできるだけ抑える必要がある。まず、抽出法については、抽出温度が高くなるにつれて分解がより一層促進され、ホルムアルデヒドの測定値が急激に増加することや人体に接して用いられることを考慮して、試料 1 g に対して水 100 ml を用い、40° で 1 時間浸せきした後、ガラスフィルター (G 2) でろ過する方法をとることとした。また、定量法にはアセチルアセトン法を採用し、樹脂の分解の少ない発色条件を検討した。ホルムアルデヒド標準液についての検討の結果、試液を添加した後、40° において 30 分間加温して発色させる方法を見いだした。これと従来よく用いられている 60° で 10 分間加温する方法とを、N, N'-ジメチロール尿素溶液や尿素樹脂で加工した布の抽出液について比較したところ、前者のほうがはるかに樹脂の分解が少なく、遊離ホルムアルデヒドの定量には、最も適当であると判断された。この方法により市販の衣類について分析したところ、尿素樹脂加工を施したキュプラ、パーマメントプレスのワイシャツ (特に、カラーのしん地) およびブラジャー (特に、内張りの不織布) などから高濃度のホルムアルデヒドが検出された。

49 ヘパリンの種特異性に関する研究

木村俊夫：東邦医会誌，21，164 (1974)

ヘパリン (Hep) の化学的本質および種特質性の解明の目的で、起源の異なる数種類の Hep をクロマトおよび電気泳動によって分離し、各画分の化学的、抗凝血活性を比較した。

ウシおよびブタ Hep は Dowex-1×8 のカラムから 2M NaCl で溶出するが、クジラ Hep は 1.25 および 1.5M NaCl で溶出した。1.5M で溶出したクジラ Hep 画分は、ウシ Hep よりもイオウ含量が少く、比旋光度が高かった。クジラ Hep は日本薬局方の抗凝血活性測定法によると、基質血液の保存が長くなるほど活性が低下した。セファデックス G-100 による分画から、ウシおよびブタ Hep では分子量の大きい画分の方が抗凝血活性が高く、クジラ Hep では、分子量の大きい画分は抗凝血活性が低かった。pH 3.0 のギ酸緩衝液中のセルロースアセテート膜電気泳動では、ウシ、ブタおよびクジラの順に早い速度で泳動し、クジラ Hep は常に 2 成分に分離し、早く泳動する成分が抗凝血活性が大であった。

以上の結果は、ウシおよびブタ Hep の間には化学構造上に大きな差異はないとしても、種特異性が存在

し、電気泳動的および生理活性的な性質に差異が現われるような微細構造の違いが存在すること、およびクジラ Hep は他の 2 種のヘパリンとは、かなり諸性質を異にする新しいタイプのヘパリンであることも明らかにした。

50 ウロキナーゼ製剤の力価測定について

西崎笹夫，川村次良：医薬品研究，5，295 (1974)

わが国における UK 製剤の力価測定法を統一する目的で、国際標準品を基準にして試験管法、平板法 (Walton 法を含む) および二段法について検討した。

1) 試験管法について、ヒトおよびウシの基質を用いて試験を行なった結果、いずれの場合も国際標準品を 1.0 とするとき、その力価比は B 社標準品は約 1.1 で国際標準品にきわめて近く、A 社標準品は国際標準品の約 2.5 に対応した。

2) 平板法について、ヒトおよびウシの基質を用い、リン酸塩緩衝液およびホウ酸塩緩衝液の場合を比較した結果、リン酸塩緩衝液のほうが適していることを示した。国際標準品を 1.0 とするときの力価比は、A 社標準品では約 1.3~2.2、B 社標準品では 1.0~1.4 であった。

3) Walton 法について、ヒト・フィブリノーゲン、ウシトロンビンの系を用いて検討したところ、国際標準品に対する力価比は、A 社標準品で 1.6~1.7、B 社標準品のそれは 1.0~1.1 であり、2) に述べた平板法よりも・再現性の高い方法であるといえよう。

4) UK 標準品 (MM001) および高純度のプラスミノゲン、フィブリノーゲン、およびトロンビンの系を用いて二段法を検討した。国際標準品に対する A 社標準品の力価比は 1.4~1.5、B 社標準品のそれは約 0.9、MM001 標準品のそれは 1.17~1.19 を示した。

5) 以上の実験結果を総合的に判断するとき、わが国における UK 製剤の規格試験法として、1,000 国際単位/vial の MM001 標準品および一定規格に適合する基質系を用いる二段法を提案した。

51 Metabolism of Triphenylmethane Colors. I. Absorption, Excretion, and Distribution of Guinea Green B (FD and C Green No. 1) in Rats

Kenichiro MINEGISHI and Tsutomu YAMAHARA: Chem. Pharm. Bull., 22, 2042 (1974)

Absorption, excretion, and distribution of Guinea Green B were investigated in rats. This color was hardly absorbed when given orally; only 2.28%

of the dose of the color was recovered in the bile after 24 hr. The cumulative recovery of biliary excretion amounted to 86.5% at 4 hr and 96.5% at 24 hr after intravenous injection. The color was not metabolized except the formation of the leuco form in the large intestine. In the case of intravenous injection, the color disappeared rapidly from various tissues except in the liver and kidney.

52 Chinoform の代謝, 代謝物の毒性および Chinoform の金属代謝に及ぼす影響

浦久保五郎, 長谷川 明, 池淵秀治, 永松国助, 戸部満寿夫, 小林和雄: 厚生省特定疾患調査研究スモン班昭和48年度研究業績, 123 (1974)

1. さきに chinoform- ^{14}C のイヌ尿中代謝物として, chinoform, 5-chloro-8-hydroquinoline (5-ClHQ) および未知代謝物1つを検出したが, この未知代謝物は artefact であることがわかった。

2. Chinoform および 5-ClHQ をイヌに長期間連続投与したところ, chinoform 投与ではスモン特有の神経症状が観察された。しかし 5-ClHQ 投与では投与量を chinoform の約4倍当量まで増量しても全く毒性を示さなかった。

3. Chinoform をラットに10日間連続経口投与し, その前後に $^{65}\text{ZnCl}_2$, $^{59}\text{FeCl}_3$, $^{54}\text{MnCl}_2$ を投与して臓器内分布を調べ, これらの金属の turn over に及ぼす chinoform の影響を研究した。その結果坐骨神経中の ^{65}Zn 含量に著明な変化がみられた。すなわち, chinoform を金属投与の前に投与した場合は坐骨神経中の ^{65}Zn 含量は著明に少なく, chinoform を金属投与の後に投与した場合は著明に多いことが認められた。

53 Studies on *Passiflora incarnata* Dry Extract. I. Isolation of Maltol and Pharmacological Action of Maltol and Ethyl Maltol

Nobuo AOYAGI, Ryohei KIMURA* and Toshiro MURATA*: *Chem. Pharm. Bull.* 22, 1008 (1974)

The compositions of the fractionized samples of *Passiflora incarnata* dry extract were investigated. Harmine was found in the ether soluble fraction by paper and thin-layer chromatographies. Maltol was isolated from the 2N-HCl soluble fraction.

The pharmacological properties of *Passiflora incarnata* dry extract, the 2N-HCl soluble fraction,

maltol and ethyl maltol were investigated. The 2N-HCl soluble fraction decreased the oxygen uptake by rat brain cortex slices at a high concentration.

Maltol caused a depression in mice and showed potentiation on hexobarbital induced sleep, anticonvulsant action with such high doses as toxic, and inhibition on the spontaneous motor activity in mice with low doses. Ethyl maltol showed similar actions but more potent anticonvulsant activity and less potent inhibitory effects on the spontaneous motor activity.

*Shizuoka College of Pharmacy

54 Studies on the Teratogenicity of Food Additives (4) Effects of Food Dye Red No. 104 (Phloxine) on the Pre- and Postnatal Development in Rats in Relation to Fetal Distribution

Shinsuke NAKAURA, Kunio KAWASHIMA, Shigeyuki NAGAO, Satoru TANAKA, Akira TAKANAKA, Tsukasa KUWAMURA and Yoshihito OMORI: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 16, 34 (1975)

Food dye Red No. 104 (phloxine) was administered to Wistar pregnant rats at levels of 0, 0.3, 1, and 3% in diet during pregnancy and teratogenic effects, and fetal and maternal organ distributions were examined.

A suppression in maternal body weight gain and growth retardation in fetuses were observed in the highest dose group. No evidences of increase in fetal death and malformation were obtained in all groups. The postnatal development was maintained well without any adverse effects. However, all newborn from 4 out of 5 dams in 3% group were killed by cannibalism within 2 days after birth.

The concentrations of phloxine in fetus organs were lower than those in the placenta and in the most of maternal organs. The embryonic toxicity was discussed in relation to fetal distribution of the dye.

55 Induction of Mammary Gland and Skin Tumours in Female Rats by the Feeding of Benzyl Violet 4B

Yoshio IKEDA, Shigetomo HORIUCHI, Akiko IMOTO, Yukio KODAMA, Yoshitaka AIDA and Kazuo KOBAYASHI: *Toxicology*, 2, 275 (1974)

A group of 35 female Sprague-Dawley rats was fed a diet containing 5% Benzyl Violet 4B for 12 months. Another group of 35 rats served as controls. In the experimental group growth was significantly depressed and only 2 animals survived the entire experimental period. Tumours developed externally in 22 out of 35 animals of the experimental group, which included 11 animals with mammary gland carcinoma, 4 animals with squamous cell carcinoma of the skin and 7 animals with both types of tumours. Though the majority of the squamous cell carcinomas developed in the ear-duct, they also appeared in the buccal and axillary regions. The mammary gland carcinomas appeared earlier than the squamous cell carcinomas of the skin. No external tumour was observed in the control group.

56 セレン化合物の衛生化学的研究 (第2報) 亜セレン酸ナトリウムの連続経口投与における投与用量と体内残留, 分布, 排泄の関係について

長谷川 明, 鈴木康雄, 浦久保五郎: 衛生化学, 20, 273 (1974)

1. ラットに対する亜セレン酸ナトリウム0.3, 1.0, 3.0 mg/kg/day の35日の連続経口投与により, 一般毒性所見として0.3 mg/kg 群では対照群と差はなく, 1.0 mg/kg 群では肝, 腎の重量増加がみられた。また3 mg/kg 群では体重増加抑制, 肝, 腎の重量の増加ならびに腎の軽度の病理学的変化が認められた。

2. 連続投与期間中のセレンの体内貯留量は投与量の多い群が多かったが, 各日の体内貯留率をみると投与量の多い群の方が低下した。

3. 排泄率は, 連続投与期間中では糞, 尿ともほぼ投与用量の多い群ほど高い値を示したが, 各群とも投与回数の増加にともない低下する傾向を示した。

投与中止後の排泄率では, 糞においては投与用量との関係が認められたが, 尿においては用量関係は認められなかった。また各群について, 中止後の経過日数の増加にともない糞尿の両方において排泄率は減少す

る傾向を示した。

4. 体内分布では, 連続投与期間中において, 腎, 副睪丸, 脾, 肝に多く, 血液, 毛の中には投与量に比例した蓄積を示した。中止後の分布では下垂体, 甲状腺などが高い値を示し, 投与期間中の値に比べ低くならず, 腎, 肝では投与期間中に比し著しい減少を示した。

5. 全生体における生物学的半減期は約26日で投与用量による大きな差は認められなかった。

57 セレン化合物の衛生化学的研究 (第3報) 亜セレン酸ナトリウムの母体内分布と胎仔への移行, 分布について

長谷川 明, 浦久保五郎: 衛生化学, 20, 341 (1974)

妊娠20日目のラットに静脈内投与した⁷⁵Se 標試亜セレン酸ナトリウムの60分後における妊娠母体への分布と胎仔への移行, 胎仔内分布について検討し, 次のような結果を得た。

1. セレン(⁷⁵Se)の母体内分布は肝臓に最も多く, 脾臓, 肺臓, 副腎では血液の7~2倍のセレン濃度が認められた。

2. 投与後, 投与量の約13%が消化管に存在し, 小腸に最も多く存在したことから, 体内に吸収されたセレンは小腸に排泄されるものと考えられる。

3. 母体に摂取されたセレンは一部胎盤を通して胎仔に移行する。しかしその移行率は低いことが認められた。

4. 胎仔に移行したセレンは胎仔の肝臓, 副腎, 腎臓に高い濃度で分布していた。

58 Distribution and Elimination of Selenium after Repeated Oral Administration in Rats

A. HASEGAWA, Y. SUZUKI, K. KOBAYASHI, M. TOBE and G. URAKUBO: *Proceedings of the Fifth Symposium on Drug Metabolism and Action* p. 39, November 9 to 10, 1973 in Shizuoka

By short term repeated oral administration of labelled sodium selenite, behavior of⁷⁵Se in rats was investigated.

To 4 groups of male rats sodium selenite solutions (0.1 μ Ci/0.03 mg/2 ml/kg/day, 0.1 μ Ci/0.3 mg/2 ml/kg/day, 0.1 μ Ci/1.0 mg/2 ml/kg/day, 0.1 μ Ci/3.0 mg/2 ml/kg/day) were given orally for 35 days.

The every day gains of body weight during

repeated administration of sodium selenite were suppressed in 3.0mg/kg dose group compared with control. At 35 day, weight of liver and kidney were markedly changed in 3.0mg/kg group.

Comparing all experimental groups, whole body accumulation rate was declined contrary to the increase of dose.

Excretion rates on each day in 3 dose group (0.3, 1.0, 3.0mg/kg) were roughly proportional to the dose during the time of repeated administration.

The biological half lives of absorbed ^{75}Se in rats were calculated statistically, and the values were 26 days for 0.03, 0.3, 1.0mg/kg groups and 24 days for 3.0mg/kg group.

59 有害金属の生体内挙動に関する研究 (第1報) カドミウムの連続投与による体内分布と投与中止後の推移

浦久保五郎, 大森義仁, 高仲 正, 小野田欽一,
長谷川 明: 食衛誌, 16, 172 (1975)

塩化カドミウム ($^{115}\text{mCdCl}_2$) 液をラットに連日経口投与すると, 30日までは体内残留量が日と共に直線的に増加し, その後70日まで増加はわずかになった。30日間投与し中止した後では, 体内残留量は1~2日に急激に減少したが, その後の減少はおそく, 生物学的半減期は250日であった。連続投与中の毎日の排泄率はほぼ一定で1回投与量に対し糞中約50%, 尿中1%以下であったが, 投与中止後は糞中排泄も尿と同じ程度となった。この他体内分布も調べた。

60 重金属の人体許容量

池田良雄: 医学のあゆみ, 89, 826 (1974)

重金属による食品汚染, すなわち, 経口摂取時の許容量の問題について, メチル水銀およびカドミウムの暫定耐量を定めた手法を紹介し, それにまつわる問題点あるいは著者らの実験動物における研究結果との関連について述べた。

61 慢性毒性試験と亜急性毒性試験

堀田茂友: 薬理と治療, 1, 381 (1973)

慢性毒性試験および亜急性毒性試験は1回投与による急性毒性試験に対比して, 検体を長時間にわたって動物に連続投与したときの影響を調べるもので, 症状, 体重, 死亡率, および生化学的ならびに病理学的

変化を主たる指標として, その毒性の全貌と, 無作用の限界量を知ることを目的としている。これらの試験を実施するに当り, 留意すべき点について述べた。

62 催奇形性試験

堀田茂友: 薬理と治療, 2, 6 (1974)

催奇形性試験について, 厚生省が定めた試験法と, それに付記されている解説を記し, 具体的な問題点などについても述べた。

63 急性毒性試験

堀田茂友: 薬理と治療, 1, 257 (1973)

急性毒性試験の一般的に実施されている方法の概略と, 著者らの経験について述べた。

64 局所刺激試験その1

堀田茂友: 薬理と治療, 2, 757 (1974)

皮膚に関する試験のうち, 皮膚一次刺激性試験について, FDA の Draize 法の解説と問題点について述べた。

65 化学物質の癌原性スクリーニングの現況

小田嶋成和: 月刊薬事, 17, 627 (1975)

1900年代初期から1974年迄に, 世界中で約4800種類の化合物について発癌動物実験が行なわれている。WHO の下部機構 International Agency for Research on Cancer の要望事項「実験動物に対する癌原性有無を判断するための最小限実験規模」により発癌実験の方法が示されている。しかし, 実際の実験は容易な業ではなく, 完備した設備, 熟練した技術者が必要で, 実験条件を満足する発癌実験を行ないうる大学, 研究所等は少ない。現在, 全世界で年間約200検体についての成績が得られるに過ぎない。一方, テストを要する天然物, 化合物は莫大な数に上る。このため, 動物発癌テストを行なう化合物を予め選別することが必要となる。

癌原性スクリーニングの現況としては, まづ各種化合物の化学構造, 人体に接する程度を考慮しつつ, 対象とすべき化合物類のリストを机上で作り, これらを細菌突然変異, 染色体異常等を指標とする疑癌性化合物のスクリーニング法にかける。そこで陽性になった化合物を動物発癌実験に移すことが良いように思われる。

66 化学的発癌

小田嶋成和：臨床科学，11，98（1975）

人癌発生の原因が，患者の出生前，出生後を通じ外部から与えられるなんらかの因子——主として化学物質——にあるであろうことは広く認識されている。

この癌原性化学物質について，その加算性経胎盤効果，およびそれぞれ単独では非癌原性物質に属する物が，体内で反応して新規の癌原性化合物に転化する場合があることを紹介し，動物実験の結果に基づいて，人間に対する危険性を評価するための考え方を述べてみた。

67 基本操作法 臓器の取扱い 1) 実験動物の作り方—担癌動物

小田嶋成和：代謝，11，1667（1974）

担癌動物の作り方は原則として，I．可移植性腫瘍を正常動物に移植する場合と，II．癌原性因子を正常動物に与え，腫瘍を新たに発生させる場合とに大別される。

可移植性腫瘍を用いる担癌動物の作製法としては，腹水腫瘍の場合と，固型腫瘍の場合があるが，それぞれについて，移植源と移植法の実際，それに用いられる動物について記述した。

原発性の腫瘍発生による担癌動物作製法としては，消化器系臓器腫瘍（口腔・唾液腺・食道，胃，腸，肝・胆管・胆嚢・膵），尿路系臓器腫瘍，呼吸器系臓器腫瘍，生殖系臓器腫瘍，神経系腫瘍，皮膚および付属器官・運動器官および外耳道の腫瘍，内分泌腺腫瘍，造血臓器腫瘍のそれぞれを原発させる手段を化学物質を用いる場合に限って記載した。

68 N-ニトロソ化合物による発ガン研究の進歩

小田嶋成和：食衛誌，15，419（1974）

本文は第33回日本癌学会総会における特別講演の大意である。

N-ニトロソ化合物の癌原性が最初に報告されてから，既に18年経過して居る。このN-ニトロソ化合物が発ガン研究の各分野で注目される理由は，多くの動物種族に強いガン原性を示す化合物であることの他に，次の3点に集約される。

1) 各種臓器ガンのモデル疾患を選択的に造り得る。即ち1-メチル-3-ニトロ-1-ニトロソグアニジン，1-エチル-3-ニトロ-1-ニトロソグアニジンにより胃ガンを，メチルニトロソ尿素により末梢神経系腫瘍を，メチルアセチルニトロソ尿素により中枢神経系腫瘍を，ニチルニトロソ尿素により赤芽球性白血病を，ブ

ロピルニトロソ尿素により骨髓球性白血病を，ブチルニトロソ尿素により骨髓芽球性白血病を，1-ブチル-3-ジメチル-1-ニトロソ尿素では白血病と腫瘍を，ブチルニトロソウレタンおよびプロピルニトロソウレタンでは上部消化管腫瘍を，ブチルブタノールニトロサミン関連化合物では膀胱ガンを選択的に造り得る。

2) 経胎盤効果が強い。エチルニトロソ尿素，ブチルニトロソ尿素等を妊娠後期のラットに投与すると，次世代動物に神経系腫瘍を生ずる。胎仔のこれら化合物に対する感受性は，母体に比べて著しく高い。この事から，所謂癌体質の解析が進展する可能性がある。

3) 生活環境中に豊富に存在する。即ち，N-ニトロソ化合物とその前駆体である亜硝酸と各種アミンが幅広く生活環境中に存在し，生体内で各種ニトロサミンを生ずる可能性が考えられる。

以上の3点につき，主として国立衛生試験所で得られた成績を紹介，文献的考察を付加した。

69 Leukemias Induced by 1-Butyl- and 1-Propyl-1-Nitrosoareas in the Rat

Shigeyoshi ODASHIMA, Toshiaki OGIU and Akihiko MAEKAWA: *COMPARATIVE LEUKEMIA RESEARCH 1973, LEUKEMOGENESIS*, Ed. Y. Ito and R.M. Dutcher, Univ. of Tokyo Press, Tokyo/Karger, Basel, p. 107 (1975)

The leukemogenic effect of 1-propyl- and 1-butyl-1-nitrosoareas (PNU and BNU) was studied in Donryu and Sprague-Dawley rats, which received the chemical in their drinking water. BNU produced leukemia in 42 out of 46 (91%) of the Donryu rats, and the majority of the induced leukemia were myeloblastic type. In the Sprague-Dawley rats, the incidence of leukemia was 70% (47/67), of which 37% (13/35) were myelocytic leukemia was still predominant (54%, 19/35). The leukemogenic activity of PNU was slightly lower than that of BNU; it produced leukemia in 64% (61/95) of the Donryu rats. The predominant type of induced leukemia was myelocytic leukemia (59%, 36/61). Therefore, it was demonstrated through the series of experiments using BNU and PNU that the strength of leukemogenic activity has a close relationship to the types of leukemia induced in animals. Both BNU and PNU, how-

ever, provide excellent disease models of myelogenous leukemia in the human being.

70 Antigenic Specificity of Different Cell Lines of Rat Ascites Hepatoma Originating in the Same Individual

Motoi ISHIDATE: *GANN Monograph on Cancer Research*, 16, 195 (1974)

The antigenic specificity of rat ascites tumors, such as 4 cell lines which were derived from separate hepatoma nodules originating in the same animal, 4 clonal sublines which were isolated from one of these cell lines, was compared by neutralization tests with sensitized peritoneal lymphoid cells *in vivo* or *in vitro*. Results obtained are as follows:

1) Peritoneal lymphoid cells (PLC) taken from animals which had been immunized with tumor cells showed marked inhibitory effects on the growth of the tumor cells used for immunization, while those taken from normal rats or from rats immunized with normal rat liver showed little effect.

2) Cross-reactivity of PLC in neutralization tests was rarely observed among the cell lines derived from separate hepatoma nodules, suggesting that the antigenic specificity of these cell lines is individually distinct.

3) Four clonal sublines isolated from a particular cell line, however, showed no such individual specificity, even though they showed different chromosomal constitution.

4) Variant sublines cytologically different from their mother tumor cell line were isolated when the tumor cells were inoculated into animals specifically immunized with the same tumor cells, or when they were inoculated into normal but whole body-irradiated animals together with sensitized PLC taken from the immune animals. Neutralization tests on these tumor cells suggested that the antigenic specificity of these variant sublines was different from that of their mother cell line.

These findings indicate that chemically induced tumors may be of multicentric cell origin and have distinct antigenic specificity even when they origi-

nate in the same organ of the same animal by the same carcinogen, or whenever they acquire new cytogenetic characteristics different from those in their original cell population.

71 Transplantation Immunity of Rats Induced by Hepatoma Cells Treated with Hetero-antibody

Adel M.A. EL-ASFAHANI*, Hiroshi MARUTA*, Den-ichi MIZUNO*, Motoi ISHIDATE, Yoshiyuki HASHIMOTO** and Kasuya NISHIOKA***: *GANN*, 66, 1 (1975)

Azo dye-induced rat hepatomas, AH-414 and AH-64A, were inoculated with rabbit antihepatoma serum intraperitoneally into Donryu rats. After the 3rd challenge, complement-dependent cytotoxic factors were obtained in the serum. Both serum factors are specific to their corresponding tumor cells in many respects.

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

** Tokyo Biochemical Research Institute

*** National Cancer Center Research Institute

72 A Tumor-specific Cytotoxic and Neutralizing Factor in Rats Immunized with Ascites Hepatoma Induced by Azo Dyes

Adel M. A. EL-ASFAHANI*, Den-ichi MIZUNO*, Yoshiyuki HASHIMOTO**, Motoi ISHIDATE and Kasuya NISHIOKA***: *GANN*, 66, 11 (1975)

Following the preceding report precise behaviors of the resistant serum from Donryu rats against the ascites hepatoma AH-64A were studied. AH-64A and AH-64B cross reacted while AH-64C and AH-64D did not. The serum showed a protective effect against the corresponding tumor cell transplantation.

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

** Tokyo Biochemical Research Institute

*** National Cancer Center Research Institute

73 Induction of Tumors of the Nervous System in the ACI/N Rat with 1-Butyl-1-nitrosourea Administered Transplacentally, Neonatally, or via Maternal Milk

Akihiko MAEKAWA and Shigeyoshi ODA-SHIMA: *GANN*, 66, 175 (1975)

1-Butyl-1-nitrosourea (BNU), a strong leukemogen for rats and mice, was administered prenatally, neonatally, and to sucklings via maternal milk in the ACI/N rats. A high incidence of neurogenous tumor was obtained in the offspring of the mother rats that received 3 subcutaneous injections of 10 mg/rat of BNU at the late stage of pregnancy and also in the animals that received one subcutaneous injection of 100 mg/kg of BNU within 34 hr after birth. Though in low incidence, the tumors also developed in the offspring of the mothers that received the BNU treatment at the middle stage of their pregnancy or in the rats that were nursed by the mother rats which received 3 subcutaneous injections of 300 mg/kg of BNU during lactation.

Contrary to expectations, leukemia developed in only one rat of all the offspring of the mother animals that received the BNU treatment during their pregnancy.

74 Induction of Tumors of the Forestomach, Esophagus, Pharynx, and Oral Cavity of the Donryu Rat Given N-Butyl-N-nitrosourea in the Drinking Water

Masaya TAKEUCHI, Shozo KAMIYA and Shigeyoshi ODASHIMA: *GANN*, 65, 227 (1974)

Three groups of Donryu rats of both sexes were given continuously 400, 200, or 100 ppm solution of N-butyl-N-nitrosourea (BNUR) as their drinking water. A high incidence of squamous cell carcinomas, 126 out of 150 rats (84%), and papillomas, 149 out of 150 rats (99%), arising from the upper digestive tract, was found in all three groups. Mean survival time of tumor-bearing rats was as short as 200 days in the group that received 400 ppm BNUR solution, and the earliest development of squamous cell carcinoma was found in the forestomach of a rat killed on the 112th experimental day.

The study on the morphogenesis of squamous cell tumors arising from the esophagus and forestomach was made in rats that were killed on the 4th, 8th, 12th, 16th, and 20th experimental week of the BNUR treatment. The result showed that the majority of these tumors developed either directly or from papillary down-growths of the squamous cell epithelium.

75 Tumor Induction with a Single Administration of N-2-Fluorenylacetylamide or N-Hydroxy-2-fluorenylacetylamide to Newborn Mice: Effect of Age after Birth

Keiji FUJII and Hiroi TAKAHASHI: *GANN*, 65, 345 (1974)

A single subcutaneous administration of 50 μ g of N-2-Fluorenylacetylamide (FAA) or 25 μ g of N-hydroxy-2-fluorenylacetylamide to newborn ICR/JCL mice induced liver tumors in males (16-72%). The age of injection after birth was an important factor in FAA hepatocarcinogenesis.

76 Rapid and Selective Induction of Erythro-leukemia in Female Donryu Rats by 1-Ethyl-1-nitrosourea

Toshiaki OGIU, Masahiro NAKADATE and Shigeyoshi ODASHIMA: *GANN*, 65, 377 (1974)

Thirty-five female Donryu rats were given continuously 400 ppm solution of 1-ethyl-1-nitrosourea as their drinking water. Among them, 34 rats (97%) developed erythro-leukemia between 70 and 113 experimental days, 86.4 ± 10.4 days in the average. No other tumors were detected in any of them.

77 Population Changes of a Rat Leukemia by Different Routes of Transplantation

Motoi ISHIDATE, Michiko AOSHIMA* and Yoshio SAKURAI*: *J. Natl. Cancer Inst.*, 53, 773 (1974)

Cytologic characteristics of 4 sublines of a transplantable myeloblastic leukemia in rats, DBLA-6, originally induced by 1-butyl-1-nitrosourea in a female Donryu rat were compared. The original cell line showed a gradual change in chromosome constitution from a diploid (44) to tetraploid (81-

84) range during serial intraperitoneal (ip) passages. By repeated intravenous (iv) passages, however, the ploidy was converted from tetraploid (83) to diploid (42). The iv-passaged sublines (GV and KV) showed a greater affinity to proliferate in the bone marrow, as indicated by a prominent increase in the leukocyte count in the peripheral blood and by higher percentages of tumor take after iv inoculation of a small number of cells, when compared with the ip-passaged sublines (GP and KP). Such cytologic changes in a cell population by different routes of passage may be the result of adaptive proliferation of either diploid cells in the bone marrow or tetraploid cells in the bone marrow or tetraploid cells in the peritoneal cavity. Successful isolation of diploid sublines from the ip-passaged subline by single cell transplantation, which showed characteristics similar to those of the iv-passaged subline, indicated that the diploid cells existed in the original cell population independent of the tetraploid cells and proliferated more in the bone marrow, with greater leukemia-inducing capacities.

* Chemotherapy Center, Cancer Institute

78 Induction of Leukemias and Digestive Tract Tumors in Donryu Rats by 1-Propyl-1-nitroso-urea

Toshiaki OGIU, Masahiro NAKADATE and Shigeyoshi ODASHIMA: *J. Natl. Cancer Inst.*, 54, 887 (1975)

Three groups of female Donryu rats were continuously given 600, 300, or 150 ppm solution of 1-propyl-1-nitroso-urea in their drinking water. Leukemias developed in 62 of 109 (57%) rats surviving for more than 17 weeks and in the digestive tracts of 31 (28%) animals. Of the leukemias, the differentiated myelocytic type was the most frequent, followed by myeloblastic leukemia and erythroleukemia. Tumors in the digestive tract, predominantly in the glandular stomach and duodenum, were both epithelial and nonepithelial. The other induced tumors were mainly in the mammary glands, ear ducts, and thymus, though the incidence was less than 15%.

79 N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンの同族体によるラットの実験胃癌

河内 卓*, 木暮喜久子*, 徳永 昭*, 風間敏子*, 杉村 隆*, 桑原紀之**, 高山昭三**, 中館正弘: 医学のあゆみ, 88, 564 (1974)

N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)の水溶液を飲料水として投与することで、ラット、ハムスター、イスに高率に胃癌が発生し、また、メチル基をエチル基で置換した ENNG も同じ投与方法で、マウス、ラット、ハムスターに胃癌、12指腸癌が発生する。今回、さらに長鎖のアルキル基で置換した n-プロピル体 (PNNG), n-ブチル体 (BNNG), i-ブチル体 (IBNNG), n-ペンチル体 (PnNNG) および n-ヘキシル体 (HNNG) の発癌性と胃粘膜に対する作用を検討した。実験動物には、生後6週令の雄性ウイスター系ラットを用い、MNNG 同族体を12ヶ月間飲料水として経口投与した。PNNG では、6例中4例に胃癌を認め、そのうち2例は腺癌、他の2例は腺腫であった。BNNG では、10例中2例に腺胃の小隆起が見られ、8例に著しい萎縮性胃炎がみられた。IBNNG では、10例中5例に腺胃の萎縮性胃炎がみられ、1例に全腹腔内を占める腫瘍と肺門リンパ節、肝門部リンパ節、腎傍リンパ節の腫脹を見、その組織像は悪性リンパ腫であった。PnNNG, HNNG 投与でも慢性萎縮性胃炎を認めた。MNNG とその同族体によって生ずる腺胃の病変もアルキル基の長さに関係がみられ、アルキル基の延長に伴って腺癌、腺腫、過形成、萎縮と胃粘膜に対する作用は穏やかになる。

* 国立ガンセンター研究所生化学部

** 癌研究所実験病理部

80 Toxicity to Mice and rats of Molded Rice of Some Mycotoxin-Producing Fungi Isolated from Foodstuffs

Koh-ichiro OHTSUBO*, Makoto ENOMOTO**, Toshitaka ISHIKO***, Mamoru SAITO*, Fumi SAKABE, Shunichi UDAGAWA and Hiroshi KURATA: *Japan. J. Exp. Med.*, 44, 477 (1974)

Considering the significance of moldy food as a causative agent of mycotoxicosis, preparatory feeding experiments were carried out using molded rice of selected fungi. In the present series only 3 species of fungi were toxic in molded rice. The most noticeable results were obtained with *Asper-*

gillus candidus. The molded rice caused death of all the animals at the concentration of 50% in rats and 30% in mice (50% diet was not ingested by the mice). Histological features resembled at most those of viral hepatitis.

As to *Penicillium viridicatum* pathological lesion in the mice of the first experiment was rather slight, although one third of the animals died. The results of the second experiment suggested toxicogenicity of these fungi also via oral route, but there were no appreciable hepatorenal lesions as seen in the previous experiments.

Molded rice of *Chaetomium globosum* caused a dose dependent decrease of the rate of body weight gain, but without showing any mortality or clinical symptom.

* 東京大学医科学研究所

** 聖マリアンナ医科大学

*** 関東通信病院

81 ヒマ種子中に含まれる Ricin の生理活性に関する研究 (第1報) Ricin の精製と発熱活性

古謝紀和, 持田研秀: 衛生化学, 20, 204 (1974)

ヒマ種子中に含まれ強い致死毒性とともに発熱活性を有する ricin を単離精製しその性状を明らかにした。

精製 ricin はポリアクリルアミドゲル電気泳動, クロマトグラフィーで均一な標品であることを示し, 沈降定数 4.70 S, 分子量 53000—54000, 等電点 7.30 であった。アミノ酸組成は一般の植物タンパク質と同様酸性アミノ酸の含量が高く, 異常アミノ酸は検出されなかった。糖含量は 6.7% であった。

精製 ricin の発熱活性は長い潜伏期と発熱状態を持続する特徴があり, 発熱量と投与量には 0.05—0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}/\text{kg}$ i.v. into rabbit の範囲で比例関係が成立した。

82 ヒマ種子中に含まれる Ricin の生理活性に関する研究 (第2報) Ricin の発熱性の特性について

古謝紀和, 持田研秀, 吉田 稔: 衛生化学, 20, 209 (1974)

Ricin の発熱機構を解明することを目的として細菌性発熱物質 (LPS) と比較検討した。精製 ricin の発熱は静注または皮下注で持続性を示した。また発熱初

期には LPS と同様流血中白血球数の減少が認められたが, 血清中に内因性発熱物質の存在は証明されなかった。しかし, *in vitro* においては精製 ricin は白血球性発熱物質を産生した。

精製 ricin の静脈内または皮下連続投与により発熱反応は低下し, 耐性獲得現象が確認されたが, LPS との間に交叉耐性は成立せず両者の発熱様式に差異のあることがわかった。

83 製剤の生物学的有効性に関する研究 (III) 発熱時における複合剤の薬効と吸収, 代謝について 加納晴三郎, 吉田 稔, 伊丹孝文: 昭和49年度厚生科学研究報告

先にアセチルサリチル酸をはじめ, 2, 3 の解熱剤の吸収, 代謝におよぼす発熱物質の影響について報告し, 発熱時, 経口投与した解熱剤が正常時に比べその血漿中濃度において変化することを明らかにした。

今回は発熱時における家兎にアセチルサリチル酸とアミノピリンを種々の割合で混合し経口投与したときの解熱効果はそれぞれの薬物の単独投与時の解熱効果から期待される値に比べ低かった。また, 血漿中のアセチルサリチル酸の濃度は単独投与時に比べ低い値を示した。一方, アミノピリンも高用量では単独投与時に比べやや低い値を示した。

84 Myxovirus Pyrogen に関する研究 III Influenza virus および細菌性発熱物質により 産生される白血球性発熱物質の異同について 川崎浩之進, 加納晴三郎: ウィルス, 24, 51 (1974)

Influenza virus (V) および Lipopolysaccharide (LPS) により家兎の腹水系多核白血球より産生されたそれぞれの Leucocytic pyrogen (V-LP, LPS-LP) の生物化学的類似性について検討し, V-LP および LPS-LP による発熱曲線は相互にきわめて類似しており, Sephadex G-200 および Biogel P-150 による gel chromatography の溶出パターンもまたよく類似し, それぞれの発熱活性および毛細血管透過性亢進活性の溶出位置もまったく同一であった。さらにそれら LP により免疫されたモルモットの抗血清による double immuno-diffusion assay によっても両 LP は血清学的にはほとんど同一であることを明らかにした。これらの成績から, inducer としての V および LPS は家兎の多核白血球における LP の生成機構に対して, ほぼ同様の態度をとり, V および LPS による発熱反応は, 同じ LP により mediate されること

を示した。

85 細菌性発熱物質の末梢作用に関する研究 (IV)
妊娠ラットに対するパイロジェンの効果について

堀 弥生, 加納晴三郎: 応用薬理, 9, 579 (1975)

パイロジェンの末梢作用を明らかにするために, ラットの妊娠期間の初期, 中期および後期にパイロジェンを腹腔内投与して, 母体および胎仔に対する影響を検討した結果, 1) 1 mg/kg のパイロジェンを3日間連続投与したところ, 母獣は一過性の体重減少を示したのみで, 胎仔には影響は認められない。2) 母獣の体温への影響は著明でない。3) 2 mg/kg のパイロジェンを投与すると, 羊水中の蛋白量は著明に増加したが, Ca, Mg および Na イオンの含量には著しい差が認められないという成績を得た。これらの結果から, 胎盤ミトコンドリアに対するパイロジェンの作用が今後の問題点であることを明らかにした。

86 白血球性発熱物質の遊離機構について

小川義之, 加納晴三郎: 日薬理誌, 71, 263 (1975)

家兔腹水系多核白血球 (PMN) の *in vitro* での白血球性発熱物質 (LP) 生成遊離機構を明らかにするために, まず PMN を培養して経時的に細胞外の LP の発熱活性と, 細胞内各種分画の発熱活性の消長を調べた。つぎに PMN の培養に伴う LP の生成遊離と, lysosome の動態を β -glucuronidase の活性を指標にして測定し, 両者の相互関係を追求して, 次のとき実験成績がえられた。1) microsome および lysosome 分画は細胞外 LP と異なる time lag の長い持続的上昇を示す発熱パターンであった。105,000 g 上清は細胞外 LP と同じく time lag の短い典型的な内因性 pyrogen の発熱パターンを示した。2) 37° で PMN を培養したとき, 細胞外 LP の活性は60分がもっとも強く, 105,000 g 上清分画は30分がもっとも強かった。3) 37° で PMN を培養したとき細胞外へ遊離される総蛋白は培養30分までにはほぼ完了していた。また 105,000 g 上清分画の蛋白量も培養30分までに著明に減少した。4) PMN を 37° で細菌性発熱物質 (LPS) と共に培養すると lysosome の崩壊が促進されたが PMN より分画して得た lysosome と LPS とを 37° で培養しても lysosome の崩壊は認められなかった。

87 パイロジェンと発熱のしくみ

加納晴三郎: 高分子, 23, (271), 723 (1974)

発熱物質とその発熱機構の問題は発熱物質の化学構造と活性との関係, 体温維持機構, また感染という複雑な機構などの諸問題を含んでおり, 化学や細菌学のみならず広い学問の分野を包括していることから, 近年明らかにされつつある諸々の学説の上に, さらに我々の成績をも加えて, 二, 三の角度からこの問題を概説した。そして発熱反応は全身反応として, 複雑な機構の集約であり, 特に発熱物質のごとき高分子の反応性はなお未知の点が多く, 関連領域の進歩に負うところ大であり, ことに体温調節神経が何ゆえに細菌毒素と反応するかという点は, 発生学的視点で把握されることが今後の問題点であると述べた。

88 道産ケシのあへんアルカロイドとその定量法について

金島弘恭, 木下良裕, 森 三佐雄, 山岸 喬, 本間正一, 本間尚治郎, 三橋 博: 生薬学雑誌, 28, 127 (1974)

GLC 法によるあへんアルカロイドの定量法の検討。ならびにケシの寒地向品種の選定, 北海道における栽培法の確立を目的とし, 試験栽培したケシの品種別, 部位別, 収穫期別, 乾燥法別によるモルヒネ, コデイン含量の測定を行ない下記の結果を得た。

- 1 ケシの品種別試験では, P-5814種が, モルヒネ, 0.43%, コデイン 0.12% とそれぞれの最高値を示した。
- 2 ケシの部位別試験では, さく果中のモルヒネ含量が全体の $\frac{1}{2}$ 以上を占め果梗を合せると $\frac{3}{4}$ 以上の比率を占めた。
- 3 ケシの収穫期別試験では, モルヒネ, コデイン含量とも開花から約3週間以後に最高となることが認められた。
- 4 ケシの乾燥法別試験では, ビニールハウス内で架乾する方法がモルヒネ含量の比較から最も適当であると認められた。

89 *Endophragmia dimorphospora*, a new hyphomycete

Takeyoshi AWAO* and Shun-ichi UDAGAWA: *Trans. mycol. Soc. Japan*, 15, 99 (1974)

A new hyphomycete, *Endophragmia dimorphospora* Awao et Udagawa isolated from Japanese soil, is described. It is characterized by the production of pyriform, almost all 1-septate,

smooth-walled, partially dark brown conidia. The presence of a *Selenosporella* state is further distinctive.

* 味の素株式会社中央研究所

90 Notes on some Japanese Ascomycetes XII
Shun-ichi UDAGAWA and Yoshikazu HORIE*:
Trans. mycol. Soc. Japan, 15, 105 (1974)

A new species of *Eupenicillium* (Eurotiaceae), *E. arvense* Udagawa et Yokoyama is described from Japanese soil. It is characterized by widely spreading colonies in yellow-reddish brown shades, fairly large ascospores with two narrow equatorial ridges and irregularly reticulate convex surfaces, and monoverticillate penicilli. Two peculiar Ascomytes, *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive et Spiltoir (Ascosphaeraceae) and *Zopfella curvata* (Fuck.) Winter (Sordariaceae), are briefly reported as new records.

* 千葉大学生物活性研究所

91 *Anixiella* and *Gelasinospora* from Himalayan soils
Yoshikazu HORIE* and Shun-ichi UDAGAWA:
Trans. mycol. Soc. Japan, 15, 196 (1974)

Five species of *Gelasinospora* and its cleistothelial counterpart (*Anixiella*) are reported from East Nepal: *A. micropertusa*, *A. saitoi*, *A. sphaerospora*, *G. himalayensis*, and *G. multiforis*. Three of these, *A. micropertusa*, *A. sphaerospora* and *G. himalayensis*, are new species. All are defined as terrestrial Sordariaceae.

* 千葉大学生物活性研究所

92 Notes on some Japanese Ascomycetes XIII
Shun-ichi UDAGAWA and Kouhei FURUYA*:
Trans. mycol. Soc. Japan, 15, 206 (1974)

This thirteenth paper of a series considers 4 species of soil-inhabiting and coprophilous Ascomycetes collected from various areas of Japan. A new species, *Zopfella attenuata* isolated from soil, Niiharu-mura, Tone-gun, Gunma-pref., is described. It is characterized by conspicuously narrow

ascospores. The remainders, *Zopfella erostrata*, *Triangularia angulospora* and *T. mangelotii*, are reported for the first time from Japan. A proposal of new combination for *Z. erostrata* (*Pleurage erostrata* Griffiths) is included.

* 三共株式会社醸酵研究所

93 はちみつ中の菌類分布について

山崎幹夫*, 堀江義一*, 宇田川俊一, 越後多嘉志**, 君 政子**: 食衛誌, 16, 1 (1975)

国内および国外のはちみつ, 合計23試料について着生菌類の分離を試みたところ, はちみつ病原菌として知られる *ascosphaera apis* のほか *Chaetomium*, *Eurotium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* 属などの菌が分離された。酵母に比べると一般に菌出現頻度は低く, 輸入試料に比べると国内産試料の出現頻度が低かった。グルコース, ショ糖の各濃度添加培地における分離菌の生育は可能であり, はちみつ自体における生育も可能であった。したがって, はちみつが発黴しにくい原因は単なる糖高濃度, 低 pH 性にあるだけでなく, 酵母による優先型環境のために菌の発育が妨げられるのであろうと推定される。

* 千葉大学生物活性研究所

** 玉川大学農学部

94 医薬品・化粧品品の微生物汚染の現状について (I)

倉田 浩, 石関忠一: 防菌防黴, 2, 13 (1974)

諸外国における医薬品, 化粧品品の微生物汚染の推移を資料にもとずいて概説し, 併せてわが国におけるその実態にふれ, さらにこの汚染に対する諸外国の対策ならびに規制への動向と日本における対策の現状と将来の問題に対する提言を行った。

95 実験的真菌症の成立機序に関する研究 1. 病原性を異にする2種の *Aspergillus* 属菌の接種方法の検討

久米 光, 大谷慎子, 佐藤重男, 倉田 浩, 直江史郎: 真菌誌, 15, 169 (1974)

実験的真菌感染症の発症, 進展に関して最も基礎的に検討すべき, 菌側の発症要因の検討を, *Aspergillus fumigatus* (久保山株) と非病原菌とみなされている *Asp. ochraceus* を用いてマウスの感染実験を行ったところ, 接種菌胞子の幼若のものほど感染力が低下する

こと、臓器内の転移性については *Asp. fumigatus* がはるかに高いこと、胞子分散媒の致死率に及ぼす影響は Mucin が最も高く、ついで CMC-Na, Tween の順であった。また静脈内接種による致死率は *Asp. fumigatus* が 70~100%, *Asp. ochraceus* が 20~25% であった。

96 輸入肉由来 *Salmonella typhimurium* に関する研究—生物型とファージ型—

河西 勉：日本公衛生誌，22，29 (1975)

輸入肉を中心に、大便、その他の食品由来 *S. typhimurium* の 520 株について生物型を調べ由来別、ファージ型、copenhagen type との関係について検討したところ、つぎのような結果を得た。

すなわち、8つの生物型に型別され、Type 1, 1a, 2, 7a, 10, 10a, 13, 15 である。そのうち Type 1 と Type 10 で供試株の 90% を占めていた。由来別との関係では Type 1 のものがヒト・家畜の大便および獣肉由来株に 70% 検出された。また Type 10 のものが家禽由来株に 60% 検出された。生物型 Type 1 に型別されたもののうち大便株は獣肉株に比べて *d*-酒石酸非分解のものが高率であった。

供試株の copenhagen type の検出率は 22% で、生物型 Type 10 に属するものが 80%、生物型 Type 1 に属するものが 11% であった。

供試株は 12 のファージ型に型別され、それぞれ Type 1, 1a, 1a var. 1, 1b, 2, 2a, 2b, 2c, 3, 4, 5 であった。Type 1a, 2 に型別されたものはそれぞれ 17% で最も高率であった。由来別では輸入獣肉株は 8 型に、輸入家禽肉株では 10 型に、またヒト大便株では 6 型に型別された。ファージ型 1a, 1a var 1 に型別された菌株はほとんど生物型 Type 10 のものであった。

生物型型別法は疫学、生態学的調査に、ファージ型別法と併用すれば感染源および汚染源追求の手段として価値があるものと思われる。

97 医薬品・化粧品における防腐・殺菌剤の利用と現状について (II)

石関忠一：防菌防黴，3，15 (1975)

現在医薬品に使用されている防腐・殺菌剤の種類、使用量それに使用目的などについては一部の剤型、点眼薬を除いて殆んど明らかでない。化粧品についての防腐・殺菌剤は化粧品原料基準においてその使用が規定されている。これら防腐・殺菌剤は使用上の問題から多くの究明しなければならない課題をかかえながら従来あまり考慮されずに各種製剤に使用されていた感がする。そこで著者は今日ある防腐・殺菌剤にあわせて過去の化合物についてもふれながら抗微生物活性、防腐・殺菌剤のあり方、その安全性の今後のあり方、それに微生物学的にみた防腐・殺菌剤の理想などについて、いままで行なった著者の実験結果を含めて考察を加えた。

98 ケネディ聴問会の経緯

竹中裕典：月刊薬事，17，23 (1975)

アメリカ上院労働公共福祉委員会小委員会で、1973 年 12 月 18 日から開かれた、医薬品使用改善法の上呈を目的としたいわゆるケネディ聴問会について、開催までのアメリカ医療保険制度をめぐる諸事情、同聴問会の第 1 段階終了 (1974 年 7 月 22 日) に至るまでの経緯を、進行の順序にしたがってそのおもな内容を紹介し、提出された医薬品使用改善法案 (S3441 号) ならびにおもな論点となったバイオエキヴァレンシー・バイオアベイラビリティ論争の要点を示した。

99 生物学的データ集について

朝比奈正人：薬学図書館，18，102 (1973)

これは昭和 48 年度日本薬学図書館協議会での講演をまとめたもので、生物学的データ集の意義、範囲、様式等について例をあげて解説したものである。

学 会 発 表

Titles of Speeches

1. 中島利章：3-置換シンノリンの N-オキシド化について

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

2. 神谷庄造, 丹野雅幸：4-(3-cyano-1-triazeno)-pyridazine 1-Oxide 誘導体の合成と反応

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

3. 五百城義和*, 今村 詮*, 中館正弘, 永田親義* : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) およびそれより生成するフリーラジカルの互変異性体構造

日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 2)

* 国立ガンセンター研究所

4. 森本和滋, 山羽 力, 中館正弘, 鈴木郁生：1,1'-Ethylenebis(1-nitrosoarea) に関する生化学的研究 (第1報) 温和な条件下での分解について

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

5. 山路 昭, 滝浦 潔* : 熱分解ガスクロマトグラフィーによる天然樹脂の分析

大阪化粧品技術者協会年7 回定期研究会 (1975. 2. 14)

* 大阪大学薬学部

6. 山路 昭, 金田吉男, 慶田雅洋, 大倉洋甫* : Captan, Difolatan および Morestan の光分解

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

* 九州大学薬学部

7. 柴崎利雄, 太田静夫, 飯島 正, 石橋無味雄, 井上哲男: 液体クロマトグラフィーによる薬品分析IV. 解熱鎮痛剤の分離定量

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)

8. 鯉淵昌信, 柴崎利雄, 井上哲男 : ガスクロマトグラフィーによる乳剤中の DDVP, Dipterex の定量

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)

9. 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 江島 昭, 井上哲男 : 医薬品の溶解試験に関する研究 I. スルファジメトキシ粉末の溶解に及ぼす諸因子, ならびに添加物の

影響

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

10. 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 江島 昭, 井上哲男 : 医薬品の溶解試験に関する研究 II. Column Type 装置による粉末の溶解

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

11. 緒方宏泰, 柴崎利雄, 井上哲男 : 人における薬物の Bioavailability と in vitro 溶出速度との関連性 スルファジメトキシンについての検討

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

12. 吉岡澄江, 緒方宏泰, 柴崎利雄, 井上哲男 : スルピリン水溶液の安定性について

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)

13. 武捨 清*¹, 叶多謙蔵, 永田親清*², 名古屋一郎*³, 橋本 茂*⁴, 山口和夫*⁵, 戸田昭三*⁶, 田中誠之*⁷ : C-13 NMR 化学シフトの図表化 (VI) メチル炭素の化学シフト

日本分析化学会第23年会 (1974. 11. 4)

*¹ 旭電化 K.K. *² 芝浦工大 *³ 旭化成 K.K. *⁴ ライオン油脂 K.K. *⁵ 協和発酵 K.K. *⁶ 東大農学部 *⁷ 東大工学部

14. 武捨 清*¹, 叶多謙蔵, 永田親清*², 名古屋一郎*³, 橋本 茂*⁴, 山口和夫*⁵, 戸田昭三*⁶, 田中誠之*⁷ : C-13 NMR 化学シフトの図表化 (VII) 脂環式化合物のメチル炭素の化学シフト

日本分析化学会第23年会 (1974. 11. 4)

*¹ 旭電化 K.K. *² 芝浦工大 *³ 旭化成 K.K. *⁴ ライオン油脂 K.K. *⁵ 協和発酵 K.K. *⁶ 東大農学部 *⁷ 東大工学部

15. 武捨 清*¹, 叶多謙蔵, 永田親清*², 名古屋一郎*³, 橋本 茂*⁴, 山口和夫*⁵, 戸田昭三*⁶, 田中誠之*⁷ : C-13 NMR 化学シフトの図表化 (VIII) エステル, カルボン酸, アミド炭素の化学シフト

日本分析化学会第23年会 (1974. 11. 4)

*¹ 旭電化 K.K. *² 芝浦工大 *³ 旭化成 K.K. *⁴ ライオン油脂 K.K. *⁵ 協和発酵 K.K. *⁶ 東大農学部 *⁷ 東大工学部

16. 武捨 清*¹, 叶多謙蔵, 永田親清*², 名古屋一郎*³, 橋本 茂*⁴, 山口和夫*⁵, 戸田昭三*⁶, 田中誠之*⁷: C-13 NMR 化学シフトの図表化 (IX) ケトン, アルデヒド炭素の化学シフト
日本分析化学会第23年会 (1974. 11. 4)
- *¹ 旭電化 K.K. *² 芝浦工大 *³ 旭化成 K.K.
*⁴ ライオン油脂 K.K. *⁵ 協和発酵 K.K. *⁶ 東大農学部 *⁷ 東大工学部
17. 叶多謙蔵, 鹿庭正昭: 質量分析法による混合試料の定量
日本分析化学会第23年会 (1974. 11. 3)
18. 佐谷戸安好, 安藤正典, 中室克彦, 松井啓子, 外村正治: 皇居外苑溜水質の衛生化学的研究(第4報) 水質成分の経年変化と溜水質の特徴について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
19. 松井啓子, 安藤正典, 佐谷戸安好, 外村正治, 野村春光*, 大南達男*: 水道水の衛生化学的研究: ガスクロマトグラフ法によるアクリルアミド定量法について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
- * 日東化学中研
20. 野口 衛: 定量的薄層クロマトグラフィーの最近の進歩
第3回生薬分析討論会 (1974. 7. 18)
21. 金田吉男, 中村恵三, 慶田雅洋: アルドリンの次亜塩素酸カルシウムによる分解
日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)
22. 慶田雅洋, 金田吉男, 外海泰秀: カドミウムカラム還元法によるチーズ中の硝酸塩の定量
日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)
23. 外海泰秀, 伊藤啓志男, 慶田雅洋: かんきつ中のジフェニル, 0-フェニルフェノールおよびチアベンダゾールの簡易測定法
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 14)
24. 慶田雅洋, 西川マチ子: 未変性ホエータンパクを指標とする牛乳および粉乳の加熱度の測定法
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 15)
25. 青木葉一*, 武田明治, 田辺弘也** : 有機リン農薬の FPD-ガスクロマトグラフィーについて
日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)
- * 医療食協会食品検査センター, ** 相模女子大学
26. 寺西葉子, 武田明治, 内山 充: 農作物中の Tetrachloroisophthalonitrile (ダコニール) の分析法
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 15)
27. 斎藤行生, 武田明治, 内山 充: 油脂性食品中のフタル酸エステル類の分析
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 13)
28. 内山 充, 武田明治, 斎藤行生, 鈴木 隆, 佐々木久美子, 寺西葉子: 重油中のベンツピレン類の定量とその食品への応用
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 13)
29. 福原克治*, 武田明治, 田辺弘也** : 魚介類中のオクタクロロジベンゾジオキシンの分析法について
日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)
- * 食品薬品安全センター, ** 相模女子大学
30. 内山貞夫, 近藤竜雄, 内山 充: γ 線照射によるトリメチルアミノオキサイドの分解: 生成する揮発性アミンの簡易分析法について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
31. 武田由比子, 五十畑悦子, 天野立爾, 内山 充, 直井家寿夫*, 中尾美津男** : 穀類中のマイコトキシンの同時分析について
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 14)
- * 都衛研 ** 食品薬品安全センター
32. 五十畑悦子, 武田由比子, 天野立爾, 内山 充: 高速液体クロマトグラフィーによるオクラトキシン A, チトリニン, ペニシリン酸の同時分析
日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 14)
33. 外海泰秀: 原子吸光法による食用タール色素中の重金属およびヒ素試験法簡易化の試み
大阪化粧品技術者協会第6回定期研究会 (1974. 2. 14)

34. 慶田雅洋, 外海泰秀: 天然鉱水の規格と試験法
第11回全国衛生化学技術協議会総会 (1974. 9. 27)
35. 佐々木喜男*, 中村恵三, 川木秀子**: Ni (AA)₂-
および Eu (DPM)₃-Lewis 塩基付加体の化学量論
第13回 NMR 討論会 (1974. 9. 30)
- * 大阪大学薬学部 ** 近畿大学薬学部
36. 中村恵三, 田中清子, 慶田雅洋: 鉛イオン選択電
極によるタール色素中の硫酸塩の定量法
日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)
37. 木嶋敬二, 西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治: 化
粧品および化粧品原料の高速液体クロマトグラフィー
による分析 (第1報) Sun-tan preparations 中
の Sunscreens について
日本分析化学会第23年会 (1974. 11. 4)
38. 木嶋敬二, 西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治: 高
速液体クロマトグラフィーによるサンオイル中の紫
外線吸収剤の検討
第18回液体クロマトグラフ研究会 (1974. 12. 18)
39. 岡谷吉雄*, 三砂久美子*, 谷川孝博*, 木嶋敬二,
西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治: 化粧品および化
粧品原料の高速液体クロマトグラフィーによる分析
(第2報)——化粧品の添加物とくに防腐, 殺菌剤の
分析法の検討——
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
- * ポーラ研究所
40. 岡谷吉雄*, 三砂久美子*, 谷川孝博*, 木嶋敬二,
西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治: 化粧品および化
粧品原料の高速液体クロマトグラフィーによる分析
(第3報)——防腐・殺菌剤の定量分析の検討——
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
- * ポーラ研究所
41. 木嶋敬二, 西村千賀子, 狩野静雄, 外村正治, 岡
谷吉雄*, 三砂久美子*, 谷川孝博*: 化粧品および
化粧品原料の高速液体クロマトグラフィーによる分
析 (第4報)——コルチコステロイドの分析法の基
礎的検討——
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
- * ポーラ研究所
42. 木嶋敬二: 化粧品領域における高速液体クロマト
グラフィーの応用
第29回液体クロマトグラフィー研究懇談会 (1975.
5. 23)
43. 山手 昇, 松村年郎: ポーラログラフィーによる
大気中のアクロレインの測定について
第15回大気汚染研究全国協議会大会 (1974. 11. 8)
44. 山手 昇, 松村年郎: 10年間 (1964~1973) にお
ける東京都内3地点の大気汚染測定結果の概要につ
いて
第15回大気汚染研究全国協議会大会 (1974. 11. 8)
45. 佐藤美恵子, 中川貴美子, 辰濃 隆, 谷村顕雄,
高橋 明*: 「ゴム製器具および容器の衛生学的検討
ゴムからの溶出物について」
日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)
- * ゴム工業技術員会衛生特別委員会
46. 辰濃 隆, 中川貴美子: 塩化ビニルモノマーの溶
出と分析法
第11回全国衛生化学技術協議会総会 (1974. 9. 26)
47. 辰濃 隆, 佐藤美恵子: PSP 容器の臭気と揮発
成分について
第11回全国衛生化学技術協議会総会 (1974. 9. 26)
48. 神蔵美枝子: 食用赤色3号 (エリスロシン) 中の
有機微量成分について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
49. 小嶋茂雄: 衣類中の遊離ホルムアルデヒドの分析
第11回全国衛生化学技術協議会総会 (1974. 9. 26)
50. 辻 楠雄: 浮遊粉じん中の総水銀について
第33回日本公衆衛生学会総会 (1974. 10. 16)
51. 大場琢磨, 辻 楠雄, 菊地 寛: 歯科材料の機器
分析に関する研究 (第4報) アマルガムカプセルの
練和時の水銀漏洩について
第29回日本歯科材料器械学会大会 (1974. 11. 29)
52. 辻 楠雄, 大場琢磨, 菊地 寛: 歯科材料の機器
分析に関する研究 (第5報) アマルガムの溶出につ
いて

第30回日本歯科材料器械学会大会 (1975. 5. 23)

Meeting (1974. 10. 25)

* Tokyo Biochemical Research Institute

53. 大場琢磨：医療用プラスチックの基準について
高分子学会第4回医用高分子シンポジウム (1975.
1. 24)

54. 大場琢磨，鈴木康雄，水町彰吾，大森義仁，桑村
司，中浦楨介：新しい血液バッグ用材質の試験成績
について

第95回日本薬学会大会 (1975. 4. 5)

63. 石綿 肇，谷村顕雄，石館守三*：ニトロソ化合
物の生体内生成に関する研究 (第3報) 唾液腺開口
部より採取した唾液中の亜硝酸塩および硝酸塩の濃
度について

日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 25)

* 東京生化学研究所

55. 亀谷勝昭：環境試料中の天然放射性核種について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

56. 永松国助，城戸靖雅：Radioimmunoassay によ
る 2, 5-dimethoxy-4-methylamphetamine の定量
(第2報)

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)

64. 石綿 肇，谷村顕雄，石館守三*：ニトロソ化合
物の生体内生成に関する研究 (第4報) ヒト唾液存
在下におけるジメチルニトロソアミンの *In Vitro*
および *In Vivo* 生成について

日本食品衛生学会第29回学術講演会 (1975. 5. 13)

* 東京生化学研究所

57. 福田秀男，早川堯夫，川村次良：ウシ *Neuro-
physin II* の *Rose Bengal* による光酸化
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

58. 太田美矢子，早川堯夫，中路幸男，川村次良：高
速液体クロマトグラフィによる軟膏製剤中のコルチ
コイドの分離定量

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)

65. 中室克彦，佐谷戸安好，外村正治，小瀬洋喜：セ
レン関連化合物に関する研究 (第6報) Na_2SeO_4 の
ラット肝臓における代謝について

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

* 岐阜薬科大学

59. 徳永裕司，木村俊夫，川村次良：高速液体クロマ
トグラフ法によるギトキシンの定量

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)

66. 安藤正典，佐谷戸安好，外村正治，大沢利昭*：
有害性金属の衛生化学的研究 (第5報) カドミウム
の連続経口投与時におけるカルシウム代謝について

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

* 東京大学薬学部

60. 池淵秀治，亀谷勝昭： ^{210}Pb の体内分布，排泄お
よび蓄積について

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

67. 関田 寛，武田明治，内山 充，金子豊蔵，山下
敬三，大竹道子：PCT の長期摂取時の実験動物体
内における蓄積

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

61. 石館守三*，原田基夫，石綿 肇，中村洋子，谷
村顕雄：亜硝酸塩の生体内生成に関する研究
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)

* 東京生化学研究所

68. 長谷川 明，鈴木康雄，浦久保五郎，祐田泰延*，
山本丈夫*：メチル基転移反応に与えるセレンの影
響 (I) セレン中毒と貧血の関係について

日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

* 静岡薬科大学

62. H. Ishiwata, P. Boriboon, M. Harada, A.
Tanimura, M. Ishidate* : Studies on *In Vivo*
Formation of Nitroso Compounds II Changes
of Nitrite and Nitrate Concentration in Human
Saliva

The Japan Food Hygienic Society the 28th

69. 田中 彰，三木 誠*，町田豊平*，上田正山*，
木戸 晃*，南 武*，池田勲夫**，茗荷昭男**，
杉沢慶彦**，倉田邦夫**，加藤貞武** : renal scan-
ning agent の開発に関する研究 (第3報) ^{99m}Tc -

一標識化合物の合成とその基礎的検討について
第14回日本核医学会総会 (1974. 7. 13)

* 東京慈恵会医科大学 泌尿器科

** ダイナボット RI 研究所

70. 田中 彰, 町田豊平*, 三木 誠*, 大石幸彦*, 入倉英雄*, 上田正山*, 木戸 晃*, 南 武*: **renal scanning agent** の開発に関する研究 (第4報)
第14回日本核医学会総会 (1974. 7. 13)

* 東京慈恵会医科大学 泌尿器科

71. 田中 彰, 時枝利江, 南原精一, 山羽 力: モルホリンの代謝に関する研究 (第1報) モルホリン脂肪酸塩および塩酸塩のラットによる吸収, 排泄について
日本食品衛生学会第回学術講演会 (1974. 10. 25)

72. 田中 彰, 大沢陸生, 南原精一, 山羽 力: モルホリンの代謝に関する研究 (第2報) モルホリン塩酸塩のラット体内分布について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

73. 田中 彰, 足立 透, 高橋昭江, 山羽 力: フタル酸エステル類に関する生化学的研究 (第3報) DEHP のラットによる吸収, 排泄と体内分布について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

74. 渡辺光夫: マウスにおける 3-ヒドロキシキヌレニンの体内分布
第33回日本癌学会総会 (1975. 10. 3)

75. Mitsuo Watanabe: **Study of Carcinogenic Tryptophan Metabolites in Urine**
第11回国際癌学会 (1974. 10. 24)

76. 渡辺光夫, 杉森ゆかり: マウスにおける 3-ヒドロキシキヌレニンの臓器別の運命
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

77. A. Tanaka, I. Ikeda*, O. Inoue*, J. Uchida*, K. Kurata*, S. Kato*, M. Miki**, T. Machida, T. Minami**:
New Renal Scanning Agents of ^{99m}Tc -Compounds

第1回世界核医学会 (1974. 9. 30 東京)

* Dainabot RI Laboratories

** Department of Urology, Jikei University, School of Medicine

78. 高橋 惇, 大森義仁: *In Vivo* と *In Vitro* における 2,4-キシリジンの核酸および蛋白質との結合性
日本薬理学会第50回関東部会 (1974. 6. 1)

79. 高橋 惇: 液体シンチレーション測定法 (蛋白および核酸の調製)
理工学における同位元素研究発表会 (1974. 6. 17)

80. 川島邦夫, 中浦楨介, 桑村 司, 大森義仁: **Steroid** の胎仔に及ぼす影響に関する実験的研究 (第8報) **Testosterone** の雄胎仔泌尿生殖器中隔分化臨界期に及ぼす影響に関する検討
第14回日本先天異常学会総会 (1974. 7. 5)

81. 榎本 真*, 直江史郎*, 原田昌興*, 増田弘毅*, 宮田慶子*, 岡部和彦*, 高橋 惇, 大森義仁: 2-アセチルアミノフルオレインのN水酸化体とアフラトキシン B₁ の併用発がん実験及びリトコール酸投与の影響 (1) 発がん過程における病態像の解析 特に γ -GTPase の活性上昇
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)

* 聖マリアンヌ医科大学

82. 中浦楨介, 小野田欽一, 田中 悟, 高仲 正, 桑村 司, 大森義仁: 食用赤色 104 号 (Phloxine) のラット胎仔移行と次世代に及ぼす影響
日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)

83. 高橋 惇, 大森義仁, 榎本 真*, 佐藤 圭**: **アミノアゾ色素のN-水酸化活性および肝組織成分との結合性と肝毒性との関係**
第6回薬物代謝と薬効毒性シンポジウム (1974. 11. 8)

* 聖マリアンヌ医科大学 ** 弘前大学

84. 小野田欽一, 高仲 正, 大森義仁, 浦久保五郎, 長谷川 明: **マンガン (^{54}Mn) の体内分布と排泄について**
日本薬理学会第51回関東部会 (1974. 11. 30)

85. 高橋 惇, 大森義仁: アゾ化合物の代謝的活性
第1回毒作用研究会 (1975. 2. 10)
86. 高橋 惇, 大森義仁: アゾ色素のN水酸化活性の
種差
第48回日本薬理学会総学 (1975. 4. 25)
87. 吉川邦衛, 中館正弘, 神谷庄造, 倉田 浩, 鈴木
郁生: N-Alkyl-N-nitrosourea 類および関連化合物
の突然変異誘発作用について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
88. 乾 直道*¹, 土屋和世*¹, 杉村 隆*², 河内 卓
*², 中館正弘: 組織培養による発癌機構の研究 (第
73報) ニトロソグアニジン誘導体の細胞毒性和トラ
ンスフォームドコロニーの形成能との関係について
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 2)
- *¹ 専売生物実験センター
*² 国立ガンセンター研究所
89. 安斎美知子, 神谷庄造, 中島利章, 米吉祥子, 丹
野雅幸, 鈴木郁生, 石館 基, 小田嶋成和, 柳町き
みえ, 吉川邦衛: 4-Nitropyridazine 1-Oxide およ
び 4-Nitrocinnoline 1-Oxide 誘導体の抗腫瘍性につ
いて
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)
90. 石館 基, 青島迪子*: 移植部位によるラット白
血病 DBLA-6 細胞集団の変化
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)
- * 癌研究所・化学療法センター
91. 前川昭彦, 小田嶋成和: ACI/N ラットの自然発
生腫瘍
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)
92. 荻生俊昭, 小田嶋成和, 中館正弘: 1-n-Propyl-
1-nitrosourea (PNU) あるいは 1-n-Butyl-1-nitro-
sourea (BNU) 一回投与によるラット腫瘍発生
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)
93. 竹内雅也, 小田嶋成和: 1-n-Butyl-3-dimethyl-1-
nitrosourea (DM-BNU) の経口投与によるラット
腫瘍発生
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)
94. 藤井敬二*, 高橋洋井: 新生児マウスを使用した
発癌実験 (III) 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene
投与時期と腫瘍発生
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)
- * 食品薬品安全センター
95. 橋本嘉幸*, 北川恒代*, 石館 基: ラット膀胱上
皮細胞の試験管内癌化 (第2報) 変異細胞の性質と
腫瘍形成
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 1)
- * 東京生化学研究所
96. 青島迪子*, 桜井欽矢*, 石館 基: ラット白血病
DBLA-6 単一細胞亜系における細胞学的特性と薬
剤感受性
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 2)
- * 癌研究所・化学療法センター
97. 小田嶋成和: 特別講演・N-ニトロソ化合物に依る
発癌研究の進歩
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 3)
98. 石館 基, 高橋洋井, 小田嶋成和: 癌原性物質の
In Vitro スクリーニングに関する研究 (I) チャイ
ニーズハムスター培養細胞に対する細胞毒性
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 3)
99. 藤井敬二*, 高橋洋井, 中館正弘: 新生児マウス
を使用した発癌実験 (IV) 1-Methyl-3-nitro-1-
nitrosoguanidine と 1, 1'-Hexamethylenebis (1-
nitroso-3-nitroguanidine) の癌原性
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 3)
- * 食品薬品安全センター
100. 橋本嘉幸*, 鈴木一喜**, 小田嶋成和, 岡田正志
*: ブチールブタノールニトロサミン (BBN) 関連
化合物の発腫瘍性——特に膀胱腫瘍発生に関連し
て (第2報)
日本癌学会第33回総会 (1974. 10. 3)
- * 東京生化学研究所
** 食品薬品安全センター
101. 中館正弘, 安斎美知子, 鈴木郁生, 石館 基, 小
田嶋成和: 1, 1'-polymethylenebis(1-nitrosourea)

および関連化合物の抗腫瘍効果

日本癌学会第33回総会 (1974.10.2)

第51回日本薬理学会関東部会 (1974.11.30)

* 食品薬品安全センター

102. Shigeyoshi Odashima and Toshiaki Ogiu :
Leukemias Induced by 1-Propyl- and 1-Butyl-1-nitrosourea in Donryu and Sprague-Dawley Rats

XIth International Cancer Congress (Florence, Italy) (1974.10.25)

103. Akihiko Maekawa and Shigeyoshi Odashima :
Induction of Tumors of the Nervous System in the ACI/N Rats administrated with 1-Butyl-1-nitrosourea Transplacentally, Neonatally or via Maternal Milk

XIth International Cancer Congress (Florence, Italy) (1974.10.25)

104. 小田嶋成和 : 化学発癌物質

第19回日本医学会総会 (シンポジウム・発癌をめぐる) (1975.4.6)

105. 前川昭彦, 荻生俊昭 : 実験白血病における前白血病

第19回日本医学会総会 (シンポジウム・前白血病状態) (1975.4.6)

106. 降矢 強, 内田雄幸, 川俣一也, 堀内茂友, 池田良雄, 鈴木一喜*, 畔上二郎* : **Furyl-furamide (AF-2) の毒性に関する研究 (第1報) 急性および慢性毒性に関する研究**

第51回日本薬理学会関東部会 (1974.11.30)

* 食品薬品安全センター

107. 内田雄幸, 降矢 強, 川俣一也, 堀内茂友, 池田良雄, 鈴木一喜*, 畔上二郎* : **Furyl-furamide (AF-2) の毒性に関する研究 (第2報) 発癌性に関する研究**

第51回日本薬理学会関東部会 (1974.11.30)

* 食品薬品安全センター

108. 門馬純子, 川俣一也, 堀内茂友, 池田良雄, 石館 基, 渋谷 徹*, 関 剛幸* : **Furyl-furamide (AF-2) の毒性に関する研究 (第3報) 哺乳動物細胞の染色体に及ぼす影響**

109. 小林和雄, 戸部満寿夫, 鈴木幸子, 川崎 靖, 関田清司, 松本清司, 向後恭子, 片岡一英, 池田良雄 : **サルにおけるメチル水銀の長期慢性毒性に関する研究 (第3報)**

第48回日本薬理学会総会 (1975.4.9)

110. 池田良雄, 堀内茂友, 降矢 強, 川俣一也, 金子豊蔵, 内田雄幸 : **サイクラミン酸ナトリウムおよびサツカリンナトリウムのラットにおける長期毒性研究**

第48回日本薬理学会総会 (1975.4.9)

111. 内藤克司, 田中しず子, 会田喜崇, 鎌田栄一, 池田康和, 鈴木康雄, 大場琢磨, 池田良雄 : **ホルムアルデヒドの毒性に関する研究 (第1報)**

第48回日本薬理学会総会 (1975.4.10)

112. 西尾 晃, 鈴木正利*, 中山昭雄* : **キャプサイシン脱感作ラットにおける発熱**

第51回日本生理学会大会 (1974.6.27)

* 大阪大学医学部第2生理学教室

113. 川崎浩之進, 加納晴三郎 : **Pyrogen test と Limulus test との相関性について**

第48回日本薬理学会総会 (1975.4.9)

114. 伊丹孝文, 吉田 稔, 加納晴三郎 : **発熱時における薬物の吸収, 代謝に関する研究 (III) 発熱時における複合剤の薬効と吸収, 代謝について**

日本薬学会第95年会 (1975.4.6)

115. 小川義之, 加納晴三郎 : **各種動物の Proteolipid と細菌性発熱物質の相互作用について**

第48回日本薬理学会総会 (1975.4.10)

116. 岡田敏央, 中垣正幸* : **レシチン-コレステロール混合単分子膜へのフェノチアジン系向精神薬トリフルオペラジンの浸透 (I)**

日本薬学会近畿支部総会 (1974.10.30)

* 京都大学薬学部

117. 岡田敏央, 中垣正幸*: レシチン—コレステロール混合単分子膜へのフェノチアジン系向精神薬フルフェナジン, トリフルオプロマジンの浸透 (II) 日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)
- * 京都大学薬学部
118. 堀越 司, 本間尚治郎, 古木益夫*: 薬用植物の栽培研究 (2) トウキ (当帰) の育苗試験について 日本作物学会第 158 回講演会 (1974. 10. 1)
- * 北海道生薬公社
119. 堀越 司, 本間尚治郎, 島山好雄, 逸見誠三郎*: 薬用植物の栽培研究 (4) 牡丹の生育収量と増殖について 日本生薬学会大阪大会 (1974. 10. 9)
- * エーザイ K.K.
120. 堀越 司, 本間尚治郎, 石崎昌吾: 薬用植物の栽培研究 (3) ミシマサイコの発芽および初期生育について 日本作物学会第 159 回講演会 (1975. 4. 4)
121. 宮崎幸男: 暖地性薬用植物の栽培について 日本生薬学会大阪大会 (1974. 10. 9)
122. 鈴木 隆, 武田明治: N-メチルカルバメート系殺虫剤の微生物による分解 第6回薬物代謝と薬効毒性シンポジウム (1974. 11. 8)
123. 鈴木 隆, 武田明治, 内山 充, 吉川邦衛, 倉田 浩: N-メチルカルバメート系殺虫剤の N-ニトロソ誘導体の突然変異誘起作用について 日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)
124. 林 長男, 小沼博隆, 松井道子, 倉田 浩, 榎本真*, 直江史郎*: アフラトキシン B₁, N-ハイドロオキシアセチルアミノフローレンならびにリトコール酸投与ラットにおける腸管内マイクロフローラの検討 日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 25)
- * 聖マリアンナ医科大
125. 小沼博隆, 松井道子, 林 長男, 倉田 浩: 飼料別実験動物の腸管ならびに糞便内マイクロフローラについて 日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 25)
126. 松井道子, 林 長男, 小沼博隆, 谷村顕雄, 倉田 浩: 腸管内微生物による食品添加物の代謝に関する研究 (第3報) —モルモットにおけるシクロヘキシルアミン尿中排泄と盲腸内容物マイクロフローラの関連性について— 日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 25)
127. 林 長男: シンポジウム 正常腸内細菌叢—その主力としてのアネロブス “腸内細菌叢による医薬品, 食品添加物の代謝について” 第48回日本細菌学総会 (1975. 4. 3)
128. 倉田 浩, 石関忠一, 吉川邦衛: 微生物による突然変異性の検索に関する研究 (第一報) フリルフラミドの Rec-assay, Transforming DNA の不活化, Host-mediate assay による突然変異性 日本食品衛生学会第28回 (1974. 10. 25)
129. 一戸正勝: *Dictyosporium* 属について 日本菌学会第18回大会 (1974. 6. 1)
130. 一戸正勝, 熊田広子, 宇田川俊一, 倉田 浩: 国産落花生の糸状菌分布と分離菌株のマイコトキシン生産性 (II) 長期貯蔵落花生の菌分布とマイコトキシン汚染の可能性について 日本食品衛生学会第28回 (1974. 10. 25)
131. 一戸正勝, 熊田広子, 天野立爾, 宇田川俊一, 倉田 浩: *Fusarium* 菌種の *Trichothecene* 生産性について マイコトキシン研究会第1回 (1975. 1. 18)
132. 鈴木 昭, 河西 勉, 高山澄江, 水島久美子: 牛乳等由来大腸菌群の温度勾配培養槽における発育温度特性について 日本食品衛生学会第28回学術講演会 (1974. 10. 24)
133. 鈴木 昭: 輸入食肉由来サルモネラの様相と耐性菌について 日本獣医学会第79回学術講演会耐性菌研究会シンポジウム (1975. 4. 7)

134. 中嶋富子, 鄭 圭燦*: 化学発癌剤, フリールフルマイド等の変異効果の比較について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

* 東大薬学部

135. 早津彦哉*, 鄭 圭燦*, 賀田恒夫**, 中嶋富子:
ソルビン酸と亜硝酸との反応及び生成物の生物活性について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

* 東大薬学部 ** 国立遺伝学研究所

136. 高鳥浩介*, 高橋恵子*, 宇田川俊一, 倉田 浩:
日本国内土壌中における aflatoxin 生産菌の分布について
第1回マイコトキシン研究会 (1975. 1. 18)

* 食品薬品安全センター

137. 岡田節子, 義平邦利, 名取信策, 桑野晴光*:
Chaetoglobosin globosum の代謝する細胞毒性物質 Chaetoglobosins の構造 (II)
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 6)

* 三共中研

138. 黒柳正典, 福岡正道, 義平邦利, 名取信策: ワラビの研究 (第7報)
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

139. 高橋千加子, 義平邦利, 名取信策: *Aspergillus candidus* の毒性代謝産物の構造 (I)
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 5)

140. 佐竹元吉: オウレンカルの胚状体分化について
日本薬学会第95年会 (1975. 4. 4)

所員の研究，試験および検査に関する発表を主とする「衛試例会」は，昭和26年から原則として毎月第2火曜日，本所講堂において開催されているが，昭和49年4月から昭和50年3月までの発表は下記のとおりである。

第153回（昭和49年4月9日）

1. フラビの研究（第5報）

生 薬 部 黒 柳 正 典
福 岡 正 道
義 平 邦 利
名 取 信 策

2. フラビの研究（第6報）

生 薬 部 黒 柳 正 典
福 岡 正 道
義 平 邦 利
名 取 信 策

3. 新マクロライド抗生物質の研究 （Sussex 大学留学報告）

生 薬 部 福 岡 正 道

4. ポリアクリル酸ナトリウムのアルカリフォスファターゼ，カルボキシペプチターゼおよびトリプシン活性におよぼす影響

医 化 学 部 高 村 二三知
新 村 寿 夫
山 羽 力

第154回（昭和49年5月14日）

1. Vitamin A の代謝研究

大阪支所食品部 伊 藤 登志男

2. 新生児動物を使用した発癌実験（V）N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine (MNNG) とその誘導体の癌原性

食品薬品安全センター 藤 井 敬 二
薬品病理部 高 橋 洋 井
合成化学研究部 中 館 正 弘

3. ジゴキシン錠の Content Uniformity について

生 物 化 学 部 徳 水 裕 司

4. 唾液中 NO₂，NO₃ 濃度と摂取食品との関係について

食品添加物部 石 綿 肇

5. トリフェニルメタン系色素の代謝（Ⅱ）紫1号（Acid Violet 6B）の吸収，排泄，分析について

医 化 学 部 嶺 岸 謙一郎
山 羽 力

第155回（昭和49年6月11日）

1. Pyrogen 発熱に対する Eserine および Quabian の作用

大阪支所薬理微生物部 小 川 義 之

2. 混合製剤の分析に関する研究（第28報）

総合感冒剤中のブロムワレリル尿素の定量

薬 品 部 立 沢 政 義
高 橋 秀 子
井 上 哲 男

3. Chaetomium globosum の代謝する細胞毒性物質の Chaetoglobosins の構造

生 薬 部 関 田 節 子
義 平 邦 利
名 取 信 策

4. 衣類中に含まれるホルムアルデヒドの分析

療 品 部 小 嶋 茂 雄

5. 魚肉ソーセージ工場における作業環境中の AF-2 について

食品添加物部 酒 井 綾 子

6. 薬学の胎仔に及ぼす影響に関する研究（第7報）

アンドロゲンの子宮内胎仔直接投与による男性化について

薬 理 部 川 島 邦 夫
藤 森 観之助
中 浦 慎 介
桑 村 司

第156回（昭和49年7月9日）

1. 炎光光度検出器付ガスクロマトグラフによる野菜，果実中の残留キャブタン，ダイホルタン，モレスタンの分析

大阪支所食品部 山 路 昭

2. ビスN-ニトロソ化合物の抗腫瘍性について

合成化学研究部 安 斎 美知子
中 館 正 弘

3. 細菌および肝ミクロゾームのアゾならびにニトロ還元酵素について

医 化 学 部 南 原 精 一

4. mutation (E. coli Sd-B (TC)) に及ぼす Fe⁺⁺ ならば Cysteine の効果

衛生微生物部 中 嶋 富 子
鄭 圭 燦

5. ニトロソアミンの精製に関する研究（クレアチンと亜硝酸塩との反応について）

食品添加物部 山 本 都

山 田 隆

6. 生体内試料中の ^{210}Pb の分析法について

放射線化学部 池 淵 秀 治

亀 谷 勝 昭

浦久保 五 郎

第 157 回 (昭和49年9月10日)

1. 発熱時における薬物の吸収, 代謝に関する研究 (Ⅱ) ビリン系薬物の吸収, 代謝におよぼす発熱物質の影響について

大阪支所薬理微生物部 伊 丹 孝 文

2. ケナガコナダニに対する常圧ガスの致死効果について

食 品 部 光 榮 昭 雄

3. 乾燥酵母中のベンゾ (a) ピレンの定量

薬 品 部 森 本 和 滋

柴 崎 利 雄

井 上 哲 男

4. マンガンの体内分布と排泄ならびに各臓器における生物学的半減期について

薬 理 部 小野田 欽 一

放射線化学部 長 谷 川 明

第 158 回 (昭和49年10月8日)

1. ベルギーの酪農乳業事情と研究

大阪支所食品部 慶 田 雅 洋

2. 農薬の微生物による代謝 (Ⅲ) N-メチルカーバメート剤のカビによる代謝

食 品 部 鈴 木 隆

3. 主として E. coli, Sd-B (TC) に及ぼす AF_2 の殺菌効果と Mutagenicity

衛生微生物部 中 嶋 富 子

平 塚 明

4. 癌原性物質の *in vitro* スクリーニングに関する研究, チャイニーズ・ハムスター培養細胞に対する細胞毒性

薬 品 病 理 部 石 館 基

高 橋 洋 井

畑 中 みどり

小田嶋 成 和

5. 安息香酸ナトリウム催奇形性試験

薬 品 病 理 部 高 橋 洋 井

石 館 基

小田嶋 成 和

第 159 回 (昭和49年11月12日)

1. 家庭用品に含有される有害物質の分析 (衣類などに含有するフェニール水銀の分析について)

療 品 部 毛 利 潤 子

小 嶋 茂 雄

2. フタル酸エステル類に関する生化学的研究 (第2報) ミトコンドリアの酸化的リン酸化におよぼす影響について

医 化 学 部 高 橋 昭 江

3. キャプサイシン脱感作ラットにおける発熱

大阪支所薬理微生物部 西 尾 晃

4. 腸管内微生物による食品添加物の代謝に関する研究 モルモットにおけるシクロヘキシルアミン尿中排泄と腸管内マイクロフローラの関連性について

衛生微生物部 松 井 道 子

林 長 男

小 沼 博 隆

倉 田 浩

食品添加物部 谷 村 頭 雄

第 160 回 (昭和49年12月10日)

1. レンチノーコレステロール混合単分子膜へのフェノチアジン系向精神薬トリフルオペラジンの浸透

大阪支所薬品部 岡 田 敏 史

2. 質量分析法による混合試料の定量

療 品 部 叶 多 謙 蔵

3. 新生仔マウスを使用した発癌実験 (VI) N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine, Dibutylnitrosamine, N-Butyl-N-(3-carboxypropyl) nitrosamine の癌原性

薬 品 病 理 部 藤 井 敬 二

高 橋 洋 井

4. Nitrite and Nitrate Contained in Human Saliva

食品添加物部 ブラカイ・ポリブーン

石 綿 肇

谷 村 頭 雄

5. Host-mediated assay による AF_2 の突然変異性

衛生微生物部 吉 川 邦 衛

石 関 忠 一

倉 田 浩

第 161 回 (昭和50年1月21日)

1. 高速液体クロマトグラフ法を利用したジギタリス配糖体のギトキシシン様物質の定量

生 物 化 学 部 徳 永 裕 司

2. 国産落花生のカビフロラと分離菌株のマイコトキ

シン生産性

衛生微生物部 一戸正勝
熊田広子

3. 歯科材料の機器分析に関する研究(第4報)アマルガムカプセルの練和時の水銀漏洩について

療品部 辻楠雄
菊地寛

4. 質料分析法による混合試料の定量

療品部 叶多謙蔵

5. ジャイアント・パンダの糞便から分離した微生物と *Corneform bacterium* nov. S.P. について

衛生微生物部 小島満子
宇田川俊一
倉田浩

6. チェコスロバキアをたずねて

衛生微生物部 小島満子

第162回(昭和50年2月18日)

1. アスピリン製剤中の無水アスピリンの定量

薬品部 斎藤恵美子
緒方宏泰
柴崎利雄
井上哲男

2. 軟膏製剤中のコルチコイドの定量法(I)比色法の障害性物質の検索

生物化学部 中路幸男

3. 軟膏製剤中のコルチコイドの定量法(II)酵素法

の検討

生物化学部 早川堯夫

4. 軟膏製剤中のコルチコイドの定量法(III)高速液体クロマトグラフ法による分離定量

生物化学部 太田美矢子

第163回(昭和50年3月11日)

1. Radioimmunoassay による 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (DOM) の定量

放射線化学部 永松国助
城戸靖雅
浦久保五郎

2. スルファジメトキシンの溶出速度と bioavailability との相関性

薬品部 緒方宏泰
柴崎利雄
井上哲男

3. メンブランフィルターへの各種防腐剤の吸着現象について

衛生微生物部 石関忠一
吉川邦衛
倉田浩

4. 塩化カドミウムの毒性に関する研究

療品部 鈴木康雄
毒性部 小林和雄

5. 合成化学研究部の研究業務について

合成化学研究部 鈴木郁生

支 所 例 会

6月例会（6月24日）

- 1) 炎光光度検出器付ガスクロマトグラフによる野菜
・果実中の残留キャプタン，ダイホルタンおよび
モレスタンの分析

山路 昭，金田吉男，慶田雅洋

- 2) ミョウバンのラットに対する催奇形性試験について

江馬 真，川崎浩之進

- 3) LPS と Cerebral Cortex より得た Proteolipid
分画との相互作用

小川義之

- 4) Capsaicin 脱感作ラットにおける発熱

西尾 晃，中山昭雄*，鈴木正利*
(*名古屋大学医学部第1生理)

10月例会（10月22日）

- 1) 鉛イオン選択電極によるタール色素中の硫酸塩の
定量法

中村恵三，田中清子，慶田雅洋

- 2) アルドリンの次亜塩素酸カルシウムによる分解

金田吉男，中村恵三，慶田雅洋

- 3) ベルギーの酪農乳業事情と研究

慶田雅洋

3月例会（3月28日）

- 1) レンチン-コレステロール混合単分子膜へのフェ
チアジン系向精神薬の浸透（Ⅱ）

岡田敏史

- 2) Captan, difolatan および morestan の光分解

慶田雅洋，金田吉男，山路 昭

- 3) かんきつ中のジフェニール，0-フェニルフェノ
ールおよびチアベンダゾールの簡易測定法

慶田雅洋，伊藤誉志男，外海泰秀

- 4) ガスクロマトグラフィーによるサッカリンの定量
法の検討

慶田雅洋，伊藤誉志男，外海泰秀

- 5) 歯磨による歯の磨耗

慶田雅洋，金田吉男

- 6) 発熱時における薬物の吸収，代謝に関する研究
（Ⅲ）

発熱時における複合剤の薬効と吸収，代謝について

伊丹孝文

- 7) 各種動物の proteolipid と細菌性発熱物質の相互
作用について

小川義之，加納晴三郎

所 内 講 演 会

癌ウィルス研究の現状

昭和49年 7 月17日

東京大学医科学研究所 下 条 寛 人

ガスマスとその応用

昭和50年 3 月18日

田辺製薬醸酵化学研究所 鈴 木 真 言

プラスチック製品使用上の衛生学的および毒性学的諸
問題

昭和49年10月 4 日

パリ大学 ジョルジュ・ルモアン

組織培養法による細胞毒性の検索

昭和50年 3 月19日

横浜市立大学医学部 梅 田 誠

発癌と化学構造相関

昭和50年 2 月20日

東京大学医科学研究所 大 坪 浩一郎

大 阪 支 所

100年前の頃

昭和49年10月15日

神戸学院大学 藤 野 恒三郎

国家検定，国家検査などの試験状況報告

Survey of the Results of National Tests

昭和49年度（昭和49年4月～昭和50年3月）における試験検査などの状況はつぎのとおりである。

国家検定については，昨年同様ブドウ糖注射液が最も多く，全体の69%を占め，ついでエタンプトール，リンゲル液，プロチオナミド錠，インシュリン亜鉛水性懸濁注射液の順となり，以上の6品目で全体の90%に達している。総件数では昨年度の件数より106件（5%増）増加している。

また国家検査については，今年度は行なわれなかった。製品検査は37%，特別審査試験45%，輸入食品等検査9%，特別行政試験26%，一斉取締試験36%とそれぞれ昨年度と比較して減となっており，輸出検査および一般依頼試験は横ばいとなっている。

なお，総計は5,786件であり，昨年度と比べて17%減少している。

区 分	試 験 検 査 数		
	東 京	大 阪	合 計
国 家 検 定	995	1,119	2,114
製 品 検 査	437	447	884
輸 出 検 査	35	—	35
特 別 審 査 試 験	141	—	141
輸 入 食 品 等 検 査	1,214	227	1,441
特 別 行 政 試 験	472	132	604
一 般 依 頼 試 験	4	2	6
一 斉 取 締 試 験	551	10	561
計	3,849	1,937	5,786

判定別件数実績表 (No. 1)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
1	—	1	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	4	6	4
1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	2	—	2	11	—	11
3	—	3	—	—	—	2	—	2	—	—	—	4	—	4	2	—	2	22	—	22
24	—	24	8	—	8	9	—	9	13	—	13	15	—	15	9	—	9	146	—	146
15	—	15	27	—	27	13	—	13	21	—	21	12	—	12	22	—	22	216	—	216
5	—	5	—	—	—	1	—	1	1	—	1	—	—	—	4	—	4	31	—	31
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	3	—	—	—	3	—	3	3	—	3	3	—	3	3	—	3	24	—	24
—	—	—	5	—	5	2	—	2	—	—	—	2	—	2	—	—	—	24	—	24
—	—	—	1	—	1	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	5	—	5
1	—	1	1	—	1	1	—	1	2	—	2	3	—	3	1	—	1	23	—	23
1	—	1	4	—	4	4	—	4	2	—	2	1	—	1	3	—	3	31	—	31
—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	3	—	3
—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	—	1	4	—	4
1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	4
1	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	7	—	7
4	—	4	2	—	2	3	—	3	1	—	1	1	—	1	2	—	2	28	—	28
—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	5	—	5
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	2	—	2

昭和 49 年度 国家検定 月別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
フェリプレシン注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
ブドウ糖注射液	東京 大阪	30 77	0 0	30 77	39 108	0 0	39 108	22 102	0 0	22 102	26 82	4 0	30 82	36 79	0 0	36 79	24 102	0 0	24 102
リンゲリ液	東京 大阪	2 2	0 0	2 2	2 4	0 0	2 4	2 3	0 0	2 3	3 7	0 0	3 7	1 6	0 0	1 6	1 6	0 0	1 6
計	東京 大阪	83 79	0 0	83 79	88 115	0 0	88 115	77 105	0 0	77 105	81 93	4 0	85 93	86 87	0 0	86 87	63 113	0 0	63 113
合 計		162	0	162	203	0	203	182	0	182	174	4	178	173	0	173	176	0	176

昭和 49 年度 製品検査 月別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東 京		76	0	76	69	0	69	8	0	8	79	0	79	49	0	49	2	0	2
大 阪		53	0	53	58	0	58	55	0	55	47	0	47	35	8	43	7	5	12
合 計		129	0	129	127	0	127	63	0	63	126	0	126	84	8	92	9	5	14

昭和 49 年度 輸出検査 月別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東 京		3	0	3	3	0	3	0	0	0	6	0	6	1	1	2	4	0	4

昭和 49 年度 特別審査試験 月別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東 京		4	0	4	8	0	8	6	0	6	14	0	14	12	0	12	24	0	24

判定別件数実績表 (No. 2)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28 84	1 1	29 85	48 90	0 0	48 90	46 105	0 0	46 105	41 68	0 0	41 68	25 76	1 0	26 76	36 76	0 0	36 76	401 1,049	6 1	407 1,050
1 6	0 0	1 6	1 5	0 0	1 5	2 1	0 0	2 1	1 0	0 0	1 0	3 0	0 0	3 0	0 1	0 0	0 1	19 41	0 0	19 41
85 94	1 1	86 95	99 96	0 0	99 96	87 108	0 0	87 108	86 69	0 0	86 69	69 80	1 0	70 80	85 79	0 0	85 79	989 1,118	6 1	995 1,119
179	2	181	195	0	195	195	0	195	155	0	155	149	1	150	164	0	164	2,107	7	2,114

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
43	0	43	28	0	28	57	0	57	0	0	0	7	0	7	19	0	19	437	0	437
20	1	21	19	0	19	66	3	69	28	1	29	30	1	31	10	0	10	428	19	447
63	1	64	47	0	47	123	3	126	28	1	29	37	1	38	29	0	29	865	19	884

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
4	0	4	2	0	2	3	0	3	3	0	3	2	0	2	3	0	3	34	1	35

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
13	0	13	10	0	10	8	0	8	15	0	15	12	0	12	15	0	15	141	0	141

昭和49年度輸入食品検査別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		良	不良	要注意	良	不良	要注意	良	不良	要注意	良	不良	要注意	良	不良	要注意	良	不良	要注意
農 産 物	東京	—	—	—	2	—	—	1	—	—	2	—	2	8	—	—	1	—	—
	大阪	6	—	—	7	—	—	[3] 8	—	—	—	—	—	—	—	—	26	5	—
水 産 物	東京	10	—	—	3	—	—	26	10	—	5	2	—	7	—	1	6	—	—
	大阪	—	—	—	[1] 2	1	—	—	—	—	[4]	—	—	2	—	—	—	—	—
畜 産 物	東京	45	—	—	37	7	—	59	1	1	48	15	—	70	—	5	63	2	3
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
かんびん詰類	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6	—	—	10	—	—
添 加 物	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
酒 精 飲 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	9	—	—	—	—	—	17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
清 涼 飲 料	東京	—	—	—	21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	15	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	[1]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
その他の飲料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	8	—	—
	大阪	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—
器具・容器包装おもちゃ	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
上記いずれにも属さないもの	東京	5	—	—	—	—	—	15	—	—	18	—	1	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	14	—	—	—	—	[1] —	—	—	—	4	—	—	—	—	1	—	—
計	東京	60	—	—	63	7	—	101	11	1	73	17	3	90	—	21	78	2	3
	大阪	15	14	—	[1] 9	3	—	[5] 25	—	—	[4]	4	—	10	—	—	37	5	—

〔 〕印内数字は無判定

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
良	不 良	要 注 意	良	不 良	要 注 意	良	不 良	要 注 意	良	不 良	要 注 意	良	不 良	要 注 意	良	不 良	要 注 意	良	不 良	要 注 意
—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	4	—	—	5	—	1	25	—	3
1	—	—	1	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	[3] 52	9	—
11	—	—	15	5	—	8	6	6	20	7	—	28	45	—	31	33	—	170	108	7
—	—	—	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[5] 26	1	—
51	—	—	115	2	—	[1] 61	1	—	17	1	—	36	7	—	65	11	7	[1] 667	47	16
—	—	—	12	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	15	2	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	3	—	—	21	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	15	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	41	2	—
15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	36	—	15
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[1]	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	18	—	—
—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	2	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	[1]	—	—	4	—	—	—	—	—	[1] 4	—	—
20	—	—	—	—	—	22	—	—	12	5	—	3	—	—	—	—	—	95	5	1
17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	[1] 18	18	—
97	—	—	130	7	—	[1] 93	7	6	49	13	—	76	52	—	101	44	8	[1] 1,011	160	42
18	1	—	50	8	—	2	—	—	[1] 1	—	—	5	—	—	9	—	—	[11] 181	35	0

昭和49年度特別行政試験月別件数実績表

区 分	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
東 京	4	15	188	38	20	7 (128)	16	0	15	12	2	27	472
大 阪	0	0	0	6	14	(112)	0	0	0	0	0	0	132

() 内は残留農薬試験件数

昭和49年度一般依頼試験月別件数実績表

区 分	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
東 京	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1	0	0	4
大 阪	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2

昭和49年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	計
東 京	543	8	551
大 阪	10	0	10

国立衛生試験所標準品

Reference Standards

国立衛生試験所において製造し、交付している標準品は別表のとおりである。

別表

日本薬局方標準品

	標準品名	包装単位	価 格	使 用 目 的
1	アスコルビン酸	1g入 1本	3,500 円	アスコルビン酸散, 同錠, 同注射液, 注射用コルチコトロピン, 持続性コルチコトロピン注射液の定量法
2	安息香酸エストラジオール	20mg入 1本	3,400	安息香酸エストラジオールの純度試験, 同注射液, 同水性懸濁注射液の確認試験および定量法
3	インシュリン	20mg入 1本	4,100	インシュリン注射液, インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液, イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の定量法, イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
4	エストラジオール	20mg入 1本	3,100	エストラジオールの純度試験
5	塩酸チアミン	200mg入 1本	3,600	塩酸チアミン, 同散, 同錠, 同注射液, 乾燥酵母, 硝酸チアミン, 同散, 同錠の定量法
6	塩酸ピリドキシン	200mg入 1本	3,900	塩酸ピリドキシン注射液の定量法
7	含糖ペプシン	20g入 1本	3,800	含糖ペプシンのたん白消化力試験
8	ジギトキシン	20mg入 1本	3,100	ジギトキシン, 同錠, 同注射液の純度試験
9	血清性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	9,900	血清性性腺刺激ホルモン, 注射用血清性性腺刺激ホルモンの定量法
10	酢酸コルチゾン	100mg入 1本	3,200	酢酸コルチゾン, 同錠, 同水性懸濁注射液の確認試験
11	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	1,600	酢酸ヒドロコルチゾンの確認試験および純度試験, 同水性懸濁注射液の確認試験
12	酢酸プレドニゾロン	100mg入 1本	2,700	酢酸プレドニゾロンの確認試験
13	シアノコバラミン	20mg入 5本	3,400	シアノコバラミン, 同注射液の定量法, 酢酸ヒドロキシコバラミンの純度試験および定量法
14	ジギタリス	1g入 3本	4,600	ジギタリス, 同末の定量法
15	ジギトキシン	50mg入 1本	4,200	ジギトキシンの確認試験および定量法, 同錠の純度試験および定量法
16	ジゴキシン	50mg入 1本	5,100	ジゴキシンの確認試験および定量法, 同錠, 同注射液の定量法
17	酒石酸水素エピネフリン	20mg入 1本	2,400	エピネフリン, 酒石酸水素エピネフリンの純度試験
18	酒石酸水素ノルエピネフリン	20mg入 1本	2,500	エピネフリン, 酒石酸水素エピネフリンの純度試験, 酒石酸水素ノルエピネフリン注射液の定量法
19	G-ストロファンチン	100mg入 1本	5,300	G-ストロファンチンの定量法, 同注射液の確認試験および定量法

日 本 薬 局 方 標 準 品

	標 準 品 名	包装単位	価 格	使 用 目 的
20	胎 盤 性 性 腺 刺 激 ホ ル モ ン	1,000単位入 1本	9,300 ^円	胎盤性性腺刺激ホルモン、注射用胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法
21	チ ロ ジ ン	500mg入 1本	2,200	注射用ヒアルロニダーゼのチロジン含量試験、パンクレアチンのたん白消化力試験
22	デ ス ラ ノ シ ド	100mg入 1本	5,800	デスラノシドの純度試験および定量法、同注射液の確認試験および定量法
23	ト ロ ン ビ ン	500単位入 2本	5,900	トロンビンの定量法
24	ニ コ チ ン 酸	500mg入 1本	2,900	ニコチン酸注射液の定量法
25	ニ コ チ ン 酸 ア ミ ド	500mg入 1本	2,900	ニコチン酸アミド注射液の定量法
26	脳 下 垂 体 後 葉	10mg入 2本	2,000	脳下垂体後葉注射液の定量法、オキシトシン注射液、バンプレシン注射液の純度試験および定量法
27	薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	1,800	酢酸レチノールおよびバルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
28	薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	1,800	酢酸レチノールおよびバルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
29	パ ラ ア ミ ノ ベ ン ゾ イ ル グ ル タ ミ ン 酸	500mg入 1本	4,900	葉酸の純度試験
30	ヒ ア ル ロ ニ ダ ー ゼ	500mg入 1本	3,800	注射用ヒアルロニダーゼの定量法
31	ヒ ド ロ コ ル チ ゾ ン	100mg入 1本	2,900	ヒドロコルチゾンの確認試験および純度試験
32	ブ レ ド ニ ゾ ロ ン	100mg入 1本	3,500	ブレドニゾロン、同錠の確認試験
33	ブ ロ ゲ ス テ ロ ン	10mg入 1本	3,300	プロゲステロンの確認試験
34	ヘ バ リ ン ナ ト リ ウ ム	1,200単位入 1本	4,800	ヘパリンナトリウム、同注射液の定量法、硫酸プロタミン、同注射液の抗ヘパリン試験
35	マ レ イ ン 酸 エ ル ゴ メ ト リ ン	20mg入 1本	3,400	酒石酸エルゴタミン、同錠、同注射液、バックク、脱脂バックク、バックク流エキス、マレイン酸エルゴメトリン、同錠、同注射液の定量法
36	葉 酸	500mg入 1本	3,500	葉酸、同錠、同注射液の定量法
37	ラ ナ ト シ ド C	100mg入 1本	6,200	ラナトシドCの純度試験および定量法
38	リ ボ フ ラ ビ ン	200mg入 1本	3,800	リボフラビン、同散、同錠、リン酸リボフラビン、同注射液の定量法
39	硫 酸 プ ロ タ ミ ン	100mg入 1本	4,400	イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
40	リ ン 酸 ヒ ス タ ミ ン	20mg入 1本	1,500	注射用コルチコトロピン、持続性コルチコトロピン注射液の純度試験
41	ル チ ン	500mg入 1本	2,800	ルチン、同錠、同注射液の定量法
42	レ セ ル ピ ン	50mg入 1本	4,600	レセルピン、同散、同錠、同注射液の定量法

国 立 衛 生 試 験 所 標 準 品

	標 準 品 名	包装単位	価 格	使 用 目 的
1	エ ス ト ロ ン	20mg入 1本	2,400 ^円	エストロン製品の確認試験および定量法
2	塩 酸 チ ア ミ ン 液	1mg入 10本	1,400	チアミン製品の定量法
3	酢 酸 デ ス オ キ シ コ ル ト ン	20mg入 1本	1,900	酢酸デスオキシコルトン製品の確認試験および定量法
4	ジエチルスチルベストロール	20mg入 1本	900	ジエチルスチルベストロール製品の確認試験および定量法
5	バ レ イ シ ョ デ ン ブ ン	100 g 入 1本	4,900	パンクレアチン、ジアスターゼ製品のデ ンブン消化力試験の参考
6	ビタミンA油(ビタミンA検定用)	1g(10,000単位) 入 10本	4,600	ビタミンA製品の定量法
7	プロピオン酸テストステロン	20mg入 1本	2,300	プロピオン酸テストステロン製品の定量 法
8	融 点 測 定 用 {アセトアニリド, アセトフェネ チジン, カフェイン, スルファ ニルアミド, スルファピリジン, ワニリン}	各 1 g 入 6本	7,700	融点測定用温度計, 同装置の補正
9	リ ゾ チ ー ム	500mg入 1本	4,800	リゾチーム製品の定量法
10	ア シ ッ ド バ イ オ レ ッ ト 6 B	1 g 入 1本	1,320	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のア シッドバイオレット 6 B の確認試験
11	ア シ ッ ド レ ッ ド	1 g 入 1本	950	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のア シッドレッドの確認試験
12	ア ゾ ル ビ ン エ キ ス ト ラ	1 g 入 1本	830	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中の アゾルビンエキントラの確認試験
13	ア マ ラ ン ス	1 g 入 1本	670	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のア マランスの確認試験
14	イ ン ジ ゴ	1 g 入 1本	910	外用医薬品, 化粧品および製剤中のイン ジゴの確認試験
15	イ ン ジ ゴ カ ル ミ ン	1 g 入 1本	570	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のイ ンジゴカルミンの確認試験
16	エ オ シ ン	1 g 入 1本	670	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のエ オシンの確認試験
17	エ リ ス ロ シ ン	1 g 入 1本	690	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のエ リスロシンの確認試験
18	オ イ ル エ ロ ー A B	1 g 入 1本	580	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中の オイルエロー A B の確認試験
19	オ イ ル エ ロ ー O B	1 g 入 1本	610	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中の オイルエロー O B の確認試験
20	オ イ ル オ レ ン ジ S S	1 g 入 1本	560	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中の オイルオレンジ S S の確認試験
21	オ イ ル レ ッ ド X O	1 g 入 1本	580	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中の オイルレッド X O の確認試験
22	オ レ ン ジ I	1 g 入 1本	670	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中の オレンジ I の確認試験
23	オ レ ン ジ II	1 g 入 1本	1,050	外用医薬品, 化粧品および製剤中のオレ ンジ II の確認試験

国 立 衛 生 試 験 所 標 準 品

	標 準 品 名	包装単位	価 格	使 用 目 的
24	ギネアグリーン B	1 g入 1本	1,190	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のギネアグリーンBの確認試験
25	サンセットエロー FCF	1 g入 1本	620	食品、医薬品、化粧品および製剤中のサンセットエローFCFの確認試験
26	タートラジン	1 g入 1本	700	食品、医薬品、化粧品および製剤中のタートラジンの確認試験
27	テトラクロルテトラブromフルオレセイン	1 g入 1本	890	外用医薬品、化粧品および製剤中のテトラクロルテトラブromフルオレセインの確認試験
28	テトラブromフルオレセイン	1 g入 1本	800	外用医薬品、化粧品および製剤中のテトラブromフルオレセインの確認試験
29	トルイジンレッド	1 g入 1本	760	外用医薬品、化粧品および製剤中のトルイジンレッドの確認試験
30	ナフトールエロー S	1 g入 1本	570	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のナフトールエローSの確認試験
31	ニューコクシン	1 g入 1本	720	食品、医薬品、化粧品および製剤中のニューコキシンの確認試験
32	パーマネントオレンジ	1 g入 1本	740	外用医薬品、化粧品および製剤中のパーマネントオレンジの確認試験
33	ハンサエロー	1 g入 1本	740	外用医薬品、化粧品および製剤中のハンサエローの確認試験
34	ファストグリーン FCF	1 g入 1本	2,090	食品、医薬品、化粧品および製剤中のファストグリーンFCFの確認試験
35	ファストレッド S	1 g入 1本	1,230	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のファストレッドSの確認試験
36	ブリリアントブルー FCF	1 g入 1本	1,250	食品、医薬品、化粧品および製剤中のブリリアントブルーFCFの確認試験
37	フルオレセイン	1 g入 1本	760	外用医薬品、化粧品および製剤中のフルオレセインの確認試験
38	フロキシシン	1 g入 1本	720	食品、医薬品、化粧品および製剤中のフロキシシンの確認試験
39	ボンソー R	1 g入 1本	650	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のボンソーRの確認試験
40	ボンソー SX	1 g入 1本	670	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のボンソーSXの確認試験
41	ボンソー 3R	1 g入 1本	690	粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のボンソー3Rの確認試験
42	リソールビン BCA	1 g入 1本	690	外用医薬品、化粧品および製剤中のリソールビンBCAの確認試験
43	レーキレッド C	1 g入 1本	690	外用医薬品、化粧品および製剤中のレーキレッドCの確認試験
44	レーキレッド CBA	1 g入 1本	750	外用医薬品、化粧品および製剤中のレーキレッドCBAの確認試験
45	レーキレッド DBA	1 g入 1本	750	外用医薬品、化粧品および製剤中のレーキレッドDBAの確認試験
46	ローズベンガル	1 g入 1本	690	食品、医薬品、化粧品および製剤中のローズベンガルの確認試験

昭和49年度国立衛生試験所標準品出納状況

(医薬品等試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アスコルビン酸	86	81	158	2	7	
安息香酸エストラジオール	0	0	0	0	0	
インシュリン	32	0	26	0	6	
エストラジオール	0	0	0	0	0	
エストロン	1	0	0	0	1	
塩酸チアミン	42	460	380	6	116	
塩酸チアミン液	0	0	0	0	0	
塩酸ピリドキシン	61	200	173	0	88	
含糖ベプシン	34	0	21	0	13	
ギトキシシン	2	0	0	0	2	
血清性性腺刺激ホルモン	43	0	25	0	18	
酢酸コルチゾン	1	0	0	0	1	
酢酸デスオキシコルトン	0	0	0	0	0	
酢酸ヒドロコルチゾン	38	0	13	0	25	
酢酸プレドニゾロン	37	0	5	0	32	
シアノコバラミン	177	0	95	0	82	
ジエチルスチルベストロール	16	0	0	0	16	
ジギタリス	45	0	2	0	43	
ジギトキシシン	1	0	0	0	1	
ジゴキシシン	8	0	6	1	1	
酒石酸水素エピネフリン	0	0	0	0	0	
酒石酸水素ノルエピネフリン	31	0	12	0	19	
G-ストロファンチン	49	0	2	0	47	
胎盤性性腺刺激ホルモン	53	0	34	0	19	
チロジン	1	56	47	0	10	
デスラノシド	49	0	12	2	35	
トロンビン	0	45	19	0	26	
ニコチン酸	70	0	8	0	62	
ニコチン酸アミド	15	200	18	0	197	
脳下垂体後葉	21	90	25	0	86	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	98	0	8	0	90	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	99	0	4	0	95	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	64	0	16	0	48	
パレイショデンブン	1	106	79	0	28	
ヒアルダーゼ	5	0	2	0	3	
ビタミンA油	0	0	0	0	0	
ヒドロコルチゾン	32	0	22	1	9	
プレドニゾロン	31	0	13	0	18	
プロゲステロン	0	0	0	0	0	
プロピオン酸テストステロン	59	0	2	0	57	
ヘパリンナトリウム	1	148	61	5	83	
マレイン酸エルゴメトリン	170	0	96	0	74	
融点測定用	0	0	0	0	0	

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費 数量	年度末 在庫数量	備考
葉酸	60個	0個	34個	0個	26個	
ラナトシドC	41	0	17	3	21	
リゾチーム	1	177	133	0	45	
リボフラビン	18	198	209	5	2	
硫酸プロタミン	32	0	2	0	30	
リン酸ヒスタミン	41	0	24	0	17	
ルチン	4	0	3	0	1	
レセルピン	36	92	52	0	76	
計	1,706	1,853	1,858	25	1,676	

(色素等試験用標準品)

標 準 品 名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費 数量	年 度 末 在庫数量	備 考
アシッドバイオレット 6 B	190 ^個	0 ^個	13 ^個	0 ^個	177 ^個	
アシッドレッド	166	0	30	10	126	
アゾルビンエキストラ	185	0	4	0	181	
アマランス	45	0	26	0	19	
インジゴ	187	0	4	0	183	
インジゴカルミン	168	0	13	0	155	
エオシン	220	0	12	0	208	
エリスロシン	210	0	38	0	172	
オイルエロー A B	330	0	11	0	319	
オイルエロー O B	337	0	10	0	327	
オイルオレンジ S S	343	0	10	0	333	
オイルレッド X O	322	0	10	0	312	
オレンジ I	386	0	11	0	375	
オレンジ II	213	0	5	0	208	
ギネアグリーン B	181	0	11	0	170	
サンセットエロー F C F	121	0	29	0	92	
タートラジン	123	0	30	0	93	
テトラクロルテトラブロムフル オレセイン	213	0	5	0	208	
テトラブロムフルオレセイン	182	0	5	0	177	
トルイジンレッド	131	0	4	0	127	
ナフトールエロー S	311	0	14	0	297	
ニューコクシン	75	0	28	0	47	
パーマネントオレンジ	102	0	6	0	96	
ハンサエロー	127	0	4	0	123	
ファストグリーン F C F	230	0	14	0	216	
ファストレッド S	245	0	4	0	241	
ブリリアントブルー F C F	163	0	20	0	143	
フルオレセイン	246	0	5	0	241	
フロキシシン	106	0	100	0	6	
ボンソー R	320	0	8	0	312	
ボンソー S X	268	0	10	0	258	
ボンソー 3 R	281	0	5	0	276	
リソールルビン B C A	435	0	4	0	431	
レーキレッド C	447	0	7	0	440	
レーキレッド C B A	185	0	6	0	179	
レーキレッド D B A	202	0	5	0	197	
ローズベンガル	193	0	31	11	151	
計	8,189	0	552	21	7,616	
合 計	9,895	1,853	2,410	46	9,292	

衛生試験所報告への投稿について

国立衛生試験所図書委員会

投 稿 規 定

- 1 投稿資格：国立衛生試験所所員とする（共著者はこの限りでない）。
- 2 内 容：原稿は報文、ノート、資料とする。そのほか誌上発表、学会発表、業務報告、総説などを収載する。
 報 文：独創性に富み、新知見を含むまとまった研究業績。
 ノー ト：断片的な研究業績で、独創性や新知見が認められるもの。
 資 料：試験、製造または調査などで、記録しておく必要のあるもの。
 誌上発表：衛生試験所報告以外の雑誌に発表したもの。
 学会発表：学会で講演したもの。
 業務報告：所長、各部長（支所も含む）、および各薬用植物栽培試験場の長が過去1年間（前年度）の業務成績、研究業績をまとめた報告。
 総 説：所員の調査または研究を中心とした総説で、所長、部長会から要望されたものについて、図書委員会が執筆を依頼したもの。
- 3 用紙および枚数の制限：
 衛生試験所所定の下稿用紙を用いる。
 報 文：図表を含めて20枚以内。
 ノートおよび資料：図表を含めて15枚以内。
 誌上発表：1題目について3枚以内。
 業務報告：各部および各薬用植物栽培試験場について8枚以内。
 総 説：原稿を依頼するとき別に定める。
- 4 原稿の提出：原稿は表紙（第1ページとする）、英文要旨、本文、文献、英文要旨の和文（参考）、最後に図表を入れた封筒の順に左上をひもでとじ、表紙右上に報文、ノート、資料のうち希望する分類を朱書きし、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆切期日までに図書館宛に提出する。
- 5 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否および分類を決定する。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

執 筆 規 定

- 1 文 体：現代かなづかい、新送りがな、ひらがなまじり口語文とし、簡潔で理解しやすい表現にする。止むを得ぬ学術用語以外は当用漢字を用いる。必要ならば全文を外国語で書いてもよい。
- 2 学 術 用 語：学会の慣例に従う。文中では物質はその名称を記し、化学式は用いない。たとえば塩酸と書きHClとしない。また、化学名を英語で書く場合、文中では原則として小文字で始める。
- 3 略記、略語、記号：物質名を略記するとき、和文、英文ともに最初は正式な名称とともに示す。たとえばイソニコチン酸（INA）と書き、（以下 INA と略す）としない。略語、記号は日本薬局方の記載方式に従う。

必ず用いなければならないもの：m, cm, mm, μ , $m\mu$, Å, m^2 , m^3 , l (Lとしない), ml(cc は用いない), μ l, kg, g, mg, μ g (γ は用いない), ng, N (normal concentration), M (molar concentration, 絶対量を示すときは mole とする), pH, ° (degree Celsius, °C としない. 例：50°), %, w/v %, Rf, t_R , ppm, Ci, mCi, μ Ci, mmHg.

主として図表にだけ用いられるもの：mp (融点), bp (沸点), dp (分解点), d (比重), n (屈折率), α (旋光度), hr (時間), min (分), sec (秒) (時間は複数のときも s をつけない), $\lambda_{\max}$ (吸収極大), $\lambda_{\min}$ (吸収極小), $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (E 値).

4 句 読 点：, . を用い、. . としない。

5 数 字：アラビア数字を用いる。千の単位にコンマをつけない。ただし、成語となっている数字は漢字とする。

6 字体の指定：黒鉛筆でつぎのように記す。

ゴ シ ッ ク 体~~~~~	例：見出しなど	試薬
イ タ リ ッ ク 体————	例：学名など	<i>Papaver somniferum</i> L.
スモールキャピタル=====	例：著者名など	Masato <u>ASHINA</u>

7 報文, ノート, 資料の記載要領：

7・1 記載順序：7・2～7・5の順に書く。

7・2 題名, 著者名：つぎの例に従い、表紙（用紙1枚全部）をこれに当てる。

例：

医薬品の確認試験法に関する研究（第2報）
鎮痛剤のクロマトグラフィー
用賀 衛・世田一郎・東 京子
Studies on the Identification of Drugs. II
Chromatographic Methods for the Analgesics
Mamoru YOGA, Ichirō SETA and Kyōko AZUMA

7・3 英文要旨：論文の内容を簡潔にまとめ、タイプライターで打つ。参考のため別紙に書いた和文を文献のつぎに添える。

7・4 本 文：新しいページから書き始める。本文のスタイルはとくに規定しないが、内容の重複を避ける。凸版にする図、または原稿用紙に書き切れない表がある場合、それらのそう入位置に若干の余白を設け、図表の番号を明記する。

7・5 文 献：本文の引用箇所の右肩に 3), 2, 3), 1~4) のように記し、終わりに文献として引用順に書く。雑誌名は Chemical Abstracts および日本化学総覧の略記法による。外国雑誌名はイタリック体であらわし、単行本は書名を省略しない。

例：

- 1) 神藏美枝子, 谷村顕雄：衛生試報, 88, 112 (1970)
- 2) 菅野三郎ら：衛生化学, 17, 19 (1971)
- 3) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: *Biochem. J.*, 106, 557 (1968)
- 4) A. White et al.: *Principles of Biochemistry*, 4th Ed., p. 937 (1968), McGraw-Hill Inc., New York
- 5) 佐々木慎一：マスペクトル解説, p. 61 (1967) 広川書店
- 6) USP XVIII, p. 321
- 7) JIS K 1234 (1970)

7・6 図 表：図または複雑な構造式など、凸版にする必要のあるものは厚手白色紙か青色方眼紙に黒インクまたはすみで書き、図中の数字、記号または説明などの文字は黒鉛筆で記す。図の大きさは原則として原稿用紙 1/2 枚とする。表の画線はできるだけ少なくし、左右両端の縦線を省く。簡単な表はなるべく本文中に書く。

図の番号は Fig. 1., Fig. 2., ……とし、表題、説明とともに図の下に、表の番号は Table 1., Table 2., ……とし、表題は表の上に、説明は表の下に記す。なお、表題、説明は原則として英語で書き（資料の場合はこの限りでない）、表題は大文字で始め、最後に . をつけない。

例：

Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Table 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as
a function of time

図および別紙に書いた表は、その裏に題名、著者名、本文中のそう入ページを記す。

提出するときは一括して封筒に入れ、そのおもてに論文題名、著者名、ならびに図、表のそれぞれの枚数を記し、原稿の最後にとじる。

8 誌上発表の記載要領：題名のつぎに改行して著者名、雑誌名、巻数、ページ数、年号の順に記す。

さらに改行して論文の要旨のみを記す。

9 学会発表の記載要領：演者名に続いて演題名を記す。改行して学会名、日付け〔例：(1972. 4. 5)〕を記す。

各演題ごとに余白 2 行を設ける。

校 正

初校は著者が行なう。人名、化学名、数値、文献などとはとくに綿密に校正する。内容の追加、行数の増加は認めない。凸版の原図は黒鉛筆で校正する。

国立衛生試験所百年史 正誤表および注

—— 正 誤 表 ——

ページ	行	誤	正
式辞 7	上 13	近年は生物系部門が互に	近年は生物系部門と理化学部門 が互に
6	写 真 左		(注参照)
6	上 7	大阪理学所, ついで大阪開成学 校と改称,	理学校と改称, ついで大阪開成 所分局となり,
6	上 8	同年	間もなく
8	下 14~13	9月28日歿	9月8日歿
8	下 12	父は俊達で	祖父は俊達で
16	下 5	小石第二郎	小石第二郎
24	下 6	元理学校の	元理学校(元大阪舎密局)の
39	写 真		(注参照)
148	上 18	規格試験室	規格研究室
152	上 2	規格試験室	規格研究室
169	上 2	規格改良室	規格研究室
382	(中)上2~3	理学所と改称し, ついで大阪開 成学校となる	理学校と改称し, ついで大阪開 成所分局となる
382	(中)上 20	催眠作用	催眠作用
390	(中)上 21	Bayer	Baeyer
394	(中)上 9	(明治16年医事薬事の最後に挿入)	大日本製薬会社(社長新田忠純) 設立(わが国製薬会社の始)
394	(中)下 1	大日本製薬会社(社長長井長義) 設立(わが国製薬会社の始)	(削除)
395	(中)上 1		
417	(右)上 7	アムゼン	アムンゼン
441	(中)上 9	ビタミンEを発見および単離	ビタミンEを単離
483	(右)下 3	シュミニ	ジュミニ
489	(中)上 8	B, HC	, BHC
496	(中)上 14	敦 湾	敦賀湾
498	(右)下 8	PBC	PCB

最近になって、菊地重郎（自然，1974年8月号，大阪舎密局の再発見）、芝哲夫（自然，1975年6月号，大阪舎密局の跡をもとめて）、宗田一（薬事日報，昭和50年6月21日，同 昭和50年8月2日）の各氏によって，大阪舎密局の位置，大阪司薬場との関係，中之島の大阪司薬場と称する写真（国立衛生試験所百年史 39 p）の誤りなどが確認または指摘されました。そこでこれを注としてここに追記します。

大阪舎密局の位置と大阪司薬場との関係

百年史 6 p の舎密局跡の碑は，旧制第三高等学校の前身がこの地にあったことから，第三高等学校同窓会が昭和12年に谷町の東側本町通に面して建立したものであるが，この位置は誤りで，舎密局は実際にはこれより北の大手通寄りにあったということである。このことは古くは昭和14年に緒方銈次郎氏によって指摘され，その後もその説は支持されてきたが，今回上述の諸論文によってはっきりと確認された。この舎密局の建物は大手通に沿って東向きにコの字状に建てられていた。大阪舎密局は明治2年5月に開設され，翌3年5月には理学校と改称され，ついで10月には大阪開成所分局となったが，その後間もなく廃止された。

大阪司薬場が設置された明治8年頃には，元理学校の建物はその南にあった大阪英語学校の敷地内にあった。大阪司薬場は元理学校すなわち大阪舎密局の建物を譲り受けて開設されたのである。

中之島の大阪司薬場と称する写真の誤り

百年史 39 p の写真の説明は昭和12年刊行の衛生試験所沿革史によったものであるが，それが誤りであることが上述の芝，宗田の両氏によって発見指摘された。この建物は大阪司薬場が中之島へ移る前の最初の司薬場（大阪舎密局の建物）の南隣りに建てられた教師館であったことが古文書などから実証された。写真の右手後方に見える屋根は大阪城の千貫櫓で，左手に少し見える建物が司薬場の南端である。なおこの教師館は明治8年司薬場がこの地に開設されたのち建てられたようである。

これらの結論に到達された諸氏のご努力に敬意と感謝の意を表しますとともに，謹んで訂正させていただきます。

今後とも，大小に拘らず，誤りをご指摘下さるようお願いします。

昭和 50 年 10 月

国立衛生試験所百年史

編集委員会

昭和 50 年 度 図 書 委 員

朝比奈 正 人 (委員長)

中 館 正 弘	青 柳 伸 男	徳 永 裕 司
長谷川 明	福 岡 正 道	叶 多 謙 蔵
中 室 克 彦	五十畑 悦子	山 田 隆
一 戸 正 勝	高 橋 惇	鈴 木 幸 子
足 立 透	荻 生 俊 昭	畠 山 好 雄
金 田 吉 男		

衛 生 試 験 所 報 告 第 93 号

昭和 50 年 11 月 10 日 印 刷
昭和 50 年 11 月 15 日 発 行

発 行 所 国立衛生試験所附属図書館
東京都世田谷区上用賀 1 丁目 18 番 1 号

印 刷 所 鈴 山 堂 印 刷 株 式 会 社
東京都新宿区新小川町 2 丁目 3 番地